

学位論文題名

糖尿病性腎症治療の新規ターゲット探索

— 高インスリン血症, HIF-1 α , ならびにメグシンが
糸球体と尿細管間質に及ぼす影響とその機序

学位論文内容の要旨

透析を必要とする末期腎不全患者数は増加の一途をたどっており、この状況を打開すべく腎臓病、特に透析導入原疾患の第一位である糖尿病性腎症の治療を目指した研究が世界中で行われている。血糖ならびに血圧を正常域に保つことにより腎臓傷害が軽減されることが明らかになり、糖尿病性腎症患者の透析導入時期を遅延させることが可能となったが、依然として腎機能低下の阻止や低下した腎機能の回復は適わず、透析導入は不可避である。糖尿病性腎症に対する、より効果的な治療方法が世界的に求められる中、本研究では糖尿病性腎症治療薬の新たな開発ターゲットとして、高インスリン血症、hypoxia inducible factor (HIF)、メグシンの3つの可能性を示した。

第一章では、II型糖尿病性腎症モデルラット SHR.Cg-*Lepr*^{cp}/NDmcr (以下 SHR/NDmcr-*cp* と省略) にピオグリタゾンもしくはインスリン製剤を投与し、腎傷害および腎機能に対する影響について比較検討を行い、高インスリン血症が糖尿病性腎症において腎傷害性に働くことを示した。高インスリン血症による、腎臓組織中の酸化ストレス、ペントシジン量に対する明らかな影響は認められなかったが、Transforming growth factor (TGF)- β RNA 量の増加が認められた。培養近位尿細管細胞 IRPTC において、インスリン濃度依存的に TGF- β RNA 量、タンパク質量の増加が認められ、TGF- β 発現増加が高インスリン血症による腎傷害メカニズムの一つと推察された。II型糖尿病性腎症に多く認められる耐糖能異常状態である高インスリン血症は、糖尿病性腎症における重要な治療ターゲットと考えられる。

第二章では、コバルトを SHR/NDmcr-*cp* へ投与し、コバルトにより腎傷害の抑制、HIF-1 α の分解抑制、尿細管間質領域の虚血・低酸素状態の軽減がもたらされることを示した。コバルト投与により、酸化ストレス、ペントシジン、TGF- β 、connecting tissue growth factor (CTGF) の抑制が認められ、これらは虚血・低酸素状態の軽減に主に起因していると推察された。HIF-1 α 分解抑制による腎臓中のエリスロポエチン、vascular endothelial growth factor (VEGF)、heme oxygenase (HO)-1 の発現増加を中心として、糸球体傷害の軽減、腎臓虚血・低酸素状態の軽減、間質線維性変化の軽減がもたらされたと推察され、HIF-1 α シグナルを促進する薬剤が、糖尿病性腎症における腎傷害および腎機能低下に対する新たな治療法となる可能性が考えられた。

第三章では、糖尿病性腎症における糸球体マトリックスの増加の一因として、高血糖により発現増加したメグシンによる、プラスミン、matrix metalloproteinase (MMP)-2、MMP-9 の活性低下の可能性を示した。SHR/NDmcr-*cp* の腎臓組織およびラットメサンギウム細胞 RMC を用いた検討より、メグシン RNA 量の増加は、グルコース濃度の上昇に起因してもたらされることが示唆された。メグシンにより、プラスミン活性が抑制され、その結果 MMP-2、MMP-9 の活性化が抑制される可能性を示した。また高グルコース培地で培養した RMC では MMP-2 および MMP-9 活性が低下するが、メグシン中和抗体 MS18a を高グルコース培地に加えて培養した RMC では MMP-2 および MMP-9 活性低下が抑制されることを示し、メグシンが高グルコース条件における MMP-2 および MMP-9 活性低下の一因である可能性を示した。メグシンは、糖尿病性腎症の糸球体組織変化をもたらす原因の一つである可能性が推察され、その阻害剤は糖尿病性腎症の腎傷害抑制をもたらす新たな治療法となる可能性が考えられる。

過去 15 年以上にわたり糖尿病性腎症の治療を目指していくつもの薬剤の開発が進められてきたが、成功に至った薬剤はこれまでにない。本論文で提示した3つの開発ターゲット候補についても、げっ歯類に比べてよりヒトにより近いとされるサルを用いた薬効評価や、II型糖尿病患者のゲノム解析データベースを用いた評価といった、これまでにない新たな手法を用いてさらに評価を行い、より確かなターゲットを選別し絞り込んでいくことにより、成功への道は切り開かれていくと考えられる。糖尿病性腎症は、数ある疾患の中でも治療薬開発が困難な部類に入ると思われるが、本研究で示した高インスリン血症、HIF シグナル、メグシンをターゲットとした薬剤研究により、糖尿病性腎症に対する新たな治療法がもたらされることが期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 稲 葉 睦
副 査 教 授 安居院 高 志
副 査 教 授 昆 泰 寛
副 査 教 授 滝 口 満 喜

学 位 論 文 題 名

糖尿病性腎症治療の新規ターゲット探索

－高インスリン血症，HIF-1 α ，ならびにメグシンが
糸球体と尿細管間質に及ぼす影響とその機序

腎臓病、特に透析導入原疾患の第一位である糖尿病性腎症治療法の開発は世界的な課題である。血糖ならびに血圧を正常域に保つことにより腎臓傷害が軽減されることが明らかになり、糖尿病性腎症患者の透析導入時期を遅延させることが可能となったが、さらに腎機能低下の阻止等を可能とする、より効果的な治療法の確立が求められている。本研究は、糖尿病性腎症治療薬の新たな開発ターゲットとして、疾患の基礎因子である高インスリン血症に着目し、この病態が腎尿細管と糸球体とに及ぼす影響とそのメカニズムを明らかにするとともに、糖尿病性腎症における様々な代謝障害が腎臓の組織傷害と機能障害をもたらす機序の解明を試みている。

第一章では、メタボリックシンドローム様徴候を呈する II 型糖尿病性腎症モデルラット SHR. Cg-*Lepr^{cp}*/NDmcr (以下 SHR/NDmcr-*cp* と省略) にチアゾリジン系薬剤、あるいはインスリン製剤を投与して、高インスリン血症を悪化、あるいは改善させて腎臓の組織と機能に対する影響について比較検討するというユニークな実験を行い、高インスリン血症が糖尿病性腎症における組織傷害の原因となることを示した。高インスリン血症による、腎臓組織中の酸化ストレス、ペントシジン量に対する明らかな影響は認められなかったが、transforming growth factor (TGF)- β RNA 量の増加が認められた。また、培養近位尿細管細胞 IRPTC において、インスリン濃度依存的に TGF- β RNA 量、タンパク質量の増加が認められた。これらの知見から、TGF- β 発現増加が高インスリン血症による腎の組織傷害を生じるメカニズムの一つと考察している。

第二章では、虚血・低酸素状態が腎臓組織に傷害を与えるプロセスが hypoxia inducible factor 1- α (HIF-1 α) を介した経路による、という仮説をもとに、コバルトを SHR/NDmcr-*cp* へ投与して組織の観察を行った。その結果、コバルト投与が HIF-1 α の分解抑制によるそのシグナル経路の活性化と尿細管間質領域の虚血・低酸素状態の軽減をもたらすことを明らかにした。さらに、コバルト投与により、酸化ストレス、ペントシジン、TGF- β 、ならびに connecting tissue growth factor の抑制が認められ、これらが虚血・低酸素、糸球体組織傷害、ならびに間質線維性変化の軽減をもたらした可能性を示した。

第三章では、糖尿病性腎症にみられる糸球体マトリックスの増加の一因として、高血糖下で発現が増加するメグシンによる、プラスミン、matrix metalloproteinase (MMP)-2、MMP-9 の活性低下の可能性を検討した。SHR/NDmcr-*cp* の腎臓組織、およびラットメサングウム細胞 RMC を用いた解析により、グルコース濃度の上昇によってメグシン RNA 量の増加が生じ、これによって生成が増すメグシンがプラスミン活性を抑制、その結果、MMP-2 と MMP-9 の活性化が抑制されるこ

とを示した。

以上のように、本研究は、高インスリン血症という病態が糖尿病性腎症における腎臓の組織傷害の原因となることを解明し、さらに HIF とメグシンという物質が、それぞれ糖尿病性腎症の発症に果たす役割とその機序を明らかにして、それぞれが薬物治療のターゲットとなり得る可能性を提示したものである。残念ながら現時点ではこれら相互間の明確な関連付けは行われていないが、本研究は、糖尿病性腎症の発症機構解明への基盤となる知見を提供するものであり、それぞれの病態や異常をもたらす分子について詳細な検討を重ねることにより、従来困難であった糖尿病性腎症治療薬開発の具体的薬剤ターゲット同定に大きく貢献するものである。したがって、審査員一同は、上記博士論文提出者大友秀一氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。