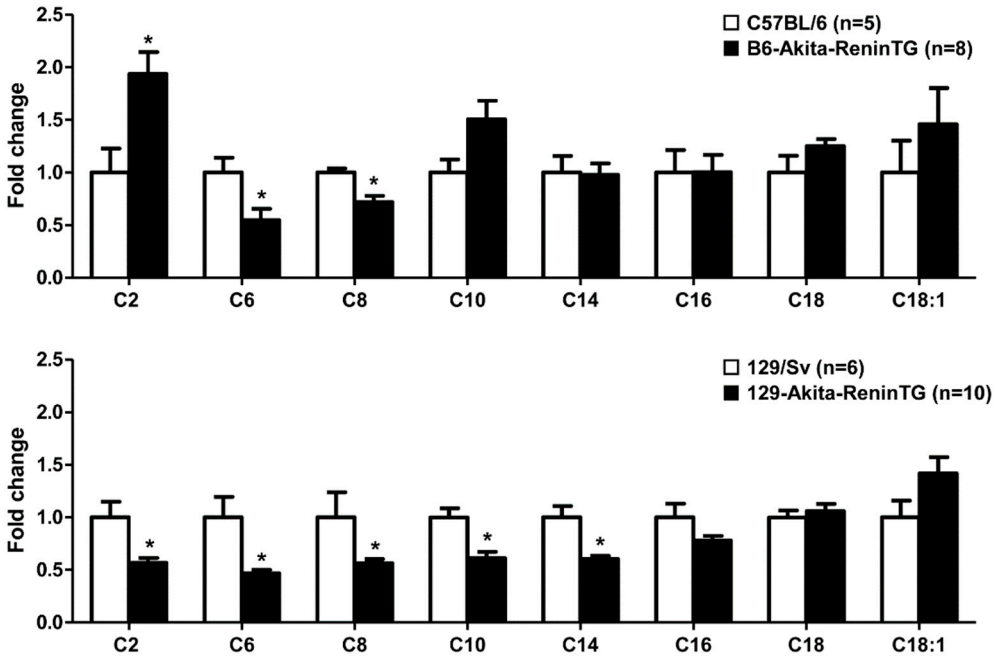
173　糖尿病性腎臓病における腎エネルギー代謝の意義	小豆島　健護

【目的】慢性腎臓病（Chronic Kidney Disease：CKD）の発症・進展に関わる新規機序の一つとして、腎臓におけるエネルギー代謝障害、特に脂肪酸酸化（Fatty Acid Oxidation：FAO）障害が重要な役割を担っていることが明らかになってきたが、糖尿病性腎臓病（Diabetic Kidney Disease：DKD）における腎エネルギー代謝の意義を検討した報告は少ない。本研究は我々が開発した DKD 抵抗型マウス（C57BL/6-Akita-ReninTG）と DKD 増悪型マウス（129/Sv-Akita-ReninTG）を用いて、DKD の発症・進展において腎エネルギー代謝障害、特に FAO 障害がどのように関わっているかを解明することを目的に行われた。

【方法】DKD 抵抗型マウスおよび DKD 増悪型マウス、そして各々の野生型対照マウス（C57BL/6 マウスおよび 129/Sv マウス）を 24 週齢の時点で代謝ケージを用いた蓄尿を施行後に解剖した。メタボローム解析を用いて腎臓におけるエネルギー代謝変化をミトコンドリア FAO（アシルカルニチン）に焦点を当てて評価するとともに、qPCR 法を用いて FAO 関連遺伝子発現の解析も行った。

【結果】DKD 増悪型マウスの腎臓では、ミトコンドリアにおける FAO 機能を反映している可能性がある偶数鎖アシルカルニチンの幅広い減少が見られるとともに、FAO 関連遺伝子の mRNA 発現が有意に変化していた。これらの変化はヒト DKD の特徴有する DKD 増悪型マウスでのみ見られ、DKD 抵抗型マウスでは認められなかった。本研究結果は、他の CKD の病態生理と同様に、FAO 障害に起因する腎エネルギー代謝の変化が DKD の進展に関連していることを示唆している。腎エネルギー代謝、特に FAO への介入は DKD を治療するための新しい治療候補となり得るため、今後さらなる研究が必要である。

DKD 抵抗型および DKD 増悪型マウスの腎臓における偶数鎖アシルカルニチンの分布



173. 糖尿病性腎臓病における腎エネルギー代謝の意義

小豆島　健護

横浜市立大学 医学部 循環器・腎臓・高血圧内科学

Key words：糖尿病性腎臓病，脂肪酸酸化，アシルカルニチン，メタボローム解析

緒　言

糖尿病患者は世界で 4 億 2 千万人に達し、糖尿病性腎臓病（Diabetic Kidney Disease：DKD）の罹患率も増加の一途を辿っている。DKD は重大な糖尿病合併症の一つであり、末期腎不全および透析導入の原疾患として最も多い。現在、血圧・糖代謝・脂質代謝などへの包括的介入が DKD に対して行われるようになっているが、DKD 患者における腎障害進行リスクは依然として極めて高く、それに対する効率的なリスク低減治療も困難な状況にある［1］。その原因として、その病態生理はいまだに未解明の部分が多く、DKD の発症・進展を抑制する治療法も極めて限られている現状が挙げられる［2］。

DKD 研究領域において、適当なモデル動物が存在しなかったことが研究進展の最大の障壁であった。これまでの DKD モデル動物はヒト DKD の早期特徴しか再現できず、これらのモデル動物により為された基礎研究の成果が実臨床に結びつかないことが多く認められた［3］。我々は Duke-NUS Medical School の Thomas Coffman 教授との共同研究として、レニン - アンジオテンシン系（RAS）および遺伝背景に着目することによって、ヒト DKD の特徴を兼ね備えた理想的なモデルマウスの開発に成功した。

近年、慢性腎臓病（Chronic Kidney Disease：CKD）の発症・進展に関わる新規機序の一つとして、腎臓におけるエネルギー代謝障害、特に脂肪酸酸化（Fatty Acid Oxidation：FAO）障害が重要な役割を担っていることが明らかになってきた［4，5］。腎臓は心臓に次いでエネルギー消費が活発な臓器であるが、その生理的機能（体液・電解質バランスの調整など）を果たす上で必要なエネルギー源として、主に脂肪酸が消費されているため［6，7］、生理学的観点からも CKD の発症・進展における FAO 障害は注目されている。しかしながら、これまで DKD における腎エネルギー代謝の意義を検討した報告は非常に少ない。

方　法

これまでの DKD モデル動物はヒト DKD の早期特徴（軽度アルブミン尿、メサンギウム領域拡大など）しか再現できず、モデル動物としての限界を指摘されてきた［3］。我々はレニン - アンジオテンシン系（RAS）および遺伝背景に着目することによって、ヒト DKD 後期に認められる特徴（重度アルブミン尿、結節性糸球体硬化、腎間質障害など）を兼ね備えた DKD モデル動物の開発に成功した。C57BL/6 を遺伝背景とする 1 型糖尿病モデル Akita マウスの RAS を活性化（肝特異的 Renin 高発現）するだけではヒト DKD の早期しか再現できなかったが（B6-Akita-ReninTG マウス：DKD 抵抗型マウス）、同マウスの遺伝背景を 129/Sv へ操作することにより劇的なアルブミン尿の増加と腎組織像の増悪を認めた（129-Akita-ReninTG マウス：DKD 増悪型マウス）。本研究では B6-Akita-ReninTG マウスおよび 129-Akita-ReninTG マウス、そして各々の野生型対照マウス（C57BL/6 マウスおよび 129/Sv マウス）を 24 週齢の時点で代謝ケージを用いた蓄尿を施行した後に解剖を行った。メタボローム解析を用いて腎臓におけるエネルギー代謝変化をミトコンドリア FAO（アシルカルニチン）に焦点を当てて評価するとともに、PCR 法を用いて FAO 関連遺伝子発現の解析も行った。

結　果

24 週齢の時点で、24 時間尿アルブミン排泄量は DKD 抵抗型マウス（B6-Akita-ReninTG）と比較して DKD 増悪型マウス（129-Akita-ReninTG）で著明に高値であった（図 1）。

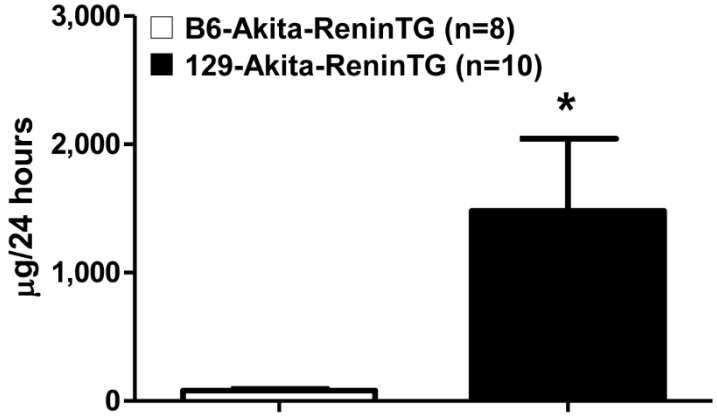


図 1. DKD 抵抗型および DKD 増悪型マウスの 24 時間尿アルブミン排泄量

* P＜0.05、vs DKD 抵抗型マウス（unpaired-t test）。

また、ミトコンドリア FAO 機能の指標である偶数鎖アシルカルニチンは、DKD 抵抗型マウスの腎臓において一部（C6、C8 アシルカルニチン）低下しているものの全体的な低下傾向は認めず、FAO エネルギー代謝の主要因子である Acetyl-CoA を反映する C2 アシルカルニチンはむしろ増加していた。一方で、DKD 増悪型マウスの腎臓では C2 アシルカルニチンを含めて大部分の偶数鎖アシルカルニチンが低下しており、ミトコンドリア FAO 機能障害の存在が示唆された（図 2）。

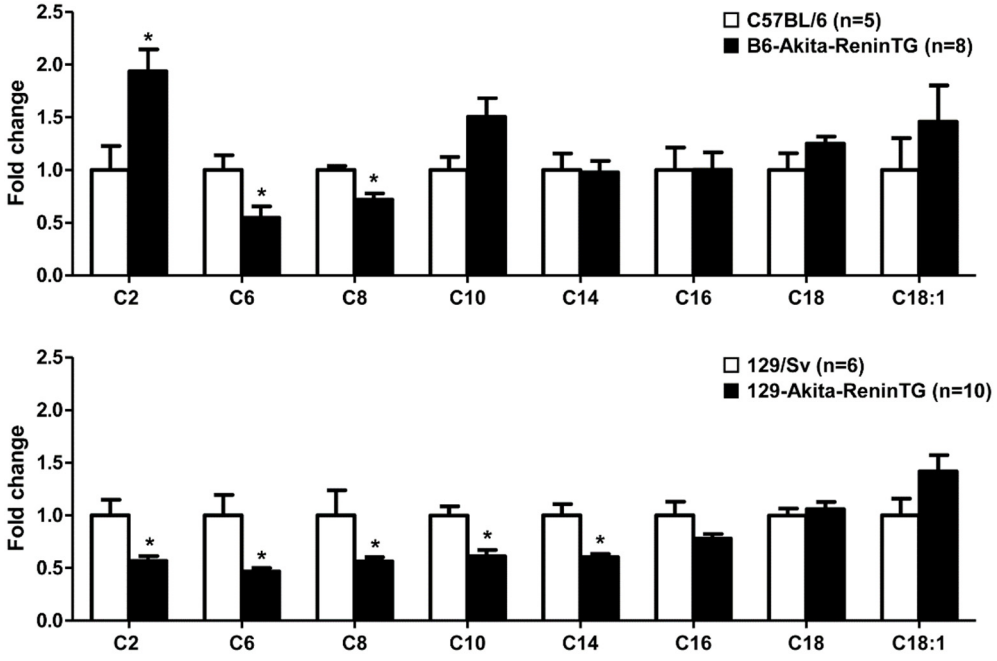


図 2. DKD 抵抗型および DKD 増悪型マウスの腎臓における偶数鎖アシルカルニチンの分布

* P＜0.05、vs 野生型対照マウス（unpaired-t test）。

また、DKD 抵抗型マウスの腎臓における FAO 関連遺伝子（*CPT1*、*CPT2*、*PPAR-α*、*PGC-1α*）の mRNA 発現は野生型対象マウスと比較し明らかな変化がなかったのに対し、DKD 増悪型マウスではこれらの遺伝子の mRNA 発現が野生型対象マウスと比較して有意に変化（増加）していた（図 3）。

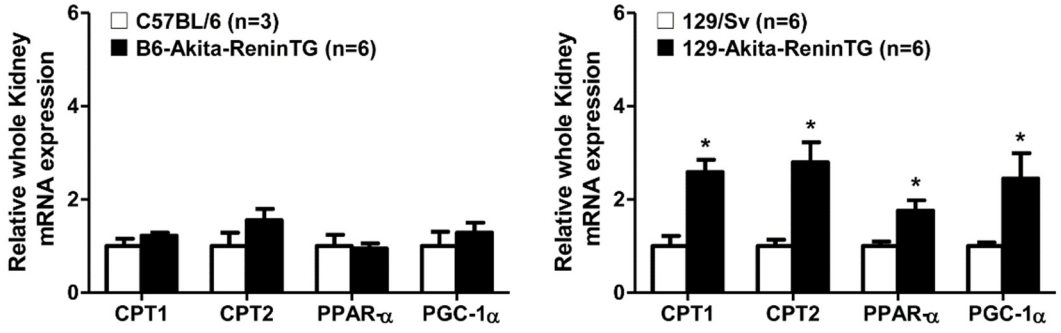


図 3. DKD 抵抗型および DKD 増悪型マウスの腎臓における FAO 関連遺伝子発現
*P＜0.05、vs 野生型対照マウス（unpaired-t test）。

考　察

DKD 増悪型マウスの腎臓では、ミトコンドリアにおける FAO 機能を反映している可能性がある偶数鎖アシルカルニチンの幅広い減少が見られるとともに、FAO 関連遺伝子の mRNA 発現が有意に変化していた。特筆すべきは、これらの変化はヒト DKD の特徴を有する 129/Sv バックグラウンドの DKD 増悪型マウスでのみ見られ、C57BL/6 バックグラウンドの DKD 抵抗型マウスでは認められなかった。本研究結果は、他の腎疾患の病態生理学と同様に、FAO 機能障害に起因する腎エネルギー代謝の変化が DKD の進展に関連していることを示唆している。腎エネルギー代謝、特に FAO への介入は DKD を治療するための新しい治療候補となり得るため、今後さらなる研究が必要である。

共同研究者・謝辞

本研究は横浜市立大学医学部循環器・腎臓・高血圧内科学の田村功一主任教授のご指導のもと、共同研究者である横浜市立大学医学部循環器・腎臓・高血圧内科学の涌井広道准教授および琉球大学大学院医学研究科先進医療創成科学講座の山下暁朗教授とともに進めて参りました。また、上原記念生命科学財団には多大なご支援を賜りましたこと、心より感謝を申し上げます。

文　献

1) 日本腎臓学会編：エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2018
2) Johnson SA, Spurney RF. Twenty years after ACEIs and ARBs: emerging treatment strategies for diabetic nephropathy.Am J Physiol Renal Physiol. 2015 Nov 15;309(10):F807-20. Epub 2015 Sep 2. PMID: 26336162 DOI: 10.1152/ajprenal.00266.2015.
3) Azushima K, Gurley SB, Coffman TM. Modelling diabetic nephropathy in mice. Nat Rev Nephrol. 2018 Jan;14(1):48-56. Epub 2017 Oct 24. PMID: 29062142 DOI: 10.1038/nrneph.2017.142.
4) Kang HM, Ahn SH, Choi P, Ko YA, Han SH, Chinga F, Park AS, Tao J, Sharma K, Pullman J, Bottinger EP, Goldberg IJ, Susztak K. Defective fatty acid oxidation in renal tubular epithelial cells has a key role in kidney fibrosis development. Nat Med. 2015 Jan;21(1):37-46. Epub 2014 Dec 1. PMID: 25419705 doi: 10.1038/nm.3762.

5) Kikuchi H, Sasaki E, Nomura N, Mori T, Minamishima YA, Yoshizaki Y, Takahashi N, Furusho T, Arai Y, Mandai S, Yamashita T, Ando F, Maejima Y, Isobe K, Okado T, Rai T, Uchida S, Sohara E. Failure to sense energy depletion may be a novel therapeutic target in chronic kidney disease. Kidney Int. 2019 Jan;95(1):123-137. Epub 2018 Nov 16. PMID: 30455054 DOI: 10.1016/j.kint.2018.08.030.
6) Balaban RS, Mandel LJ. Metabolic substrate utilization by rabbit proximal tubule. An NADH fluorescence study. Am J Physiol. 1988 Mar;254(3 Pt 2):F407-16. PMID: 3348418 DOI: 10.1152/ajprenal.1988.254.3.F407.
7) Weidemann MJ, Krebs HA. Biochem J. The fuel of respiration of rat kidney cortex. Biochem J. 1969 Apr;112(2):149-66. PMID: 5805283 DOI: 10.1042/bj1120149.