# 82 末梢血DNAメチル化に注目した糖尿病合併症治療戦略

慶應義塾大学 医学部 内科学（腎臓内分泌代謝内科） 林　香

**【背景】**慢性腎臓病（Chronic kidney disease：CKD）は世界的に増加傾向にあり、今や世界人口の１割が慢性腎臓病の範疇に入ると言われ、背景には人口の高齢化による高血圧、糖尿病の増加が指摘されている。DNA 損傷および修復は、老化表現型のほぼすべてに影響を与えるとされる生理的反応であり、我々はこれまで、腎臓における DNA 損傷修復により DNA メチル化をはじめとしたエピゲノム変化が惹起され、CKD 病態形成に関与することを報告してきた。更に糸球体上皮細胞（ポドサイト）における二本鎖 DNA 損傷は、DNA メチル化変化を介して CD8 T 細胞の活性化・メモリー細胞分化に関与し、腎障害の増悪や合併症進展に関与することが示唆された。

**【目的】**本研究においては、腎予後と関連することが示唆されている近位尿細管上皮細胞における二本鎖 DNA 損傷が、どのような表現型を呈するのかを明らかにすることにより、糖尿病関連腎臓病（Diabetic kidney disease：DKD）を含む CKD の新規治療戦略を開発することを目指す。

**【方法】**近位尿細管上皮細胞特異的に、ホーミングエンドヌクレアーゼ I-PpoI を発現させるマウス（γGT-Cre+ROSA26-STOP-I-PpoI, I-PpoI マウス）を作製し、非変異原性二本鎖 DNA 損傷を惹起するマウスモデルを作成し解析を行った。またヒトサンプルを用いて、マウスモデルにおける結果の妥当性を検証した。

**【結果】**I-PpoI マウスでは、尿細管障害は軽度であったが、体重減少、耐糖能異常、肝臓や心臓における異所性脂肪沈着等、全身の代謝変容が惹起された。腎皮質サンプルを用いたシングルセル RNA-seq 解析では、活性化マクロファージ、単球の増加を認め、脂肪組織、肝臓にも活性化マクロファージの浸潤、末梢血においても Ly6c 陽性活性化単球増加を認めた。DNA メチル化解析により、KLF9 結合モチーフにおける DNA メチル化低下が検出され、ヒトにおいても KLF9 下流遺伝子の一つである GSDMD の低メチル化と、近位尿細管上皮細胞の二本鎖 DNA 損傷の程度、および脂肪肝指数の関連を認めた。以上から、近位尿細管上皮細胞の DNA 損傷は、腎臓における代謝障害のみならず、DNA メチル化が関与するマクロファージ活性化を介して、全身の代謝変容を惹起することが示唆された（以下発表3）。

**【考察と今後の展望】**近年のヒトエピゲノムワイド解析の結果、血球細胞の DNA メチル化変化が腎機能と関連することが複数報告され、メタ解析の結果から、免疫細胞活性化に関わる経路の DNA メチル化が尿アルブミンと関連していることが示唆されている。更に、後の糖尿病合併症（腎症、網膜症）の発症、すなわち糖尿病におけるメモリー効果に、血球細胞の DNA メチル化が関与していることが報告されている。本研究で見出された KLF9 結合モチーフの DNA メチル化低下は、この報告において、HbA1c と関連することが示されていた。このことから、末梢血の DNA メチル化変化を評価することにより、近位尿細管上皮細胞の DNA 損傷の程度から予測される腎予後のみならず、代謝臓器合併症の可能性を予測できる可能性が示唆される。今後 DKD において、腎臓 DNA 損傷と網膜症の発症との関連性についても検討し、末梢血 DNA メチル化に注目した糖尿病合併症に対する包括的な治療戦略の確立を目指していきたい。

**【共同研究者・謝辞】**本研究は、慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科に所属する多くの共同研究者によって行われた。この場を借りて感謝申し上げます。

**【発表】**

1) Akihito Hishikawa, Eriko Yoshida-Hama, Ran Nakamichi, Miho Kihara, Takaya Abe, Norifumi Yoshimoto, Erina Sugita-Nishimura, Hiroshi Itoh, **Kaori Hayashi**. Predicting exacerbation of renal function by DNA methylation clock and DNA damage of urinary shedding cells: a pilot study. Sci Rep. 2024. May 21;14(1):11530.

2) Eriko Yoshida-Hama, Ran Nakamichi, Akihito Hishikawa, Miho Kihara, Takaya Abe, Norifumi Yoshimoto, Erina Sugita-Nishimura, Hiroshi Itoh, **Kaori Hayashi**. Podocyte Ercc1 is indispensable for glomerular integrity. Biochem Biophys Res Commun, 2024 Apr 16;704:149713.

3) Erina Sugita Nishimura, Akihito Hishikawa, Ran Nakamichi, Riki Akashio, Shunsuke Chikuma, Akinori Hashiguchi, Norifumi Yoshimoto, Eriko Yoshida Hama, Tomomi Maruki, Wataru Itoh, Shintaro Yamaguchi, Jun Yoshino, Hiroshi Itoh, **Kaori Hayashi**. DNA damage in proximal tubules triggers systemic metabolic dysfunction through epigenetically altered macrophages. Nat Commun, in press