

2019年4月24日

東北大学大学院医学系研究科  
東北大学大学院医工学研究科  
東北大学大学院薬学研究科  
東北大学東北メディカル・メガバンク機構  
岡山大学

## フェニル硫酸が糖尿病性腎臓病の新規原因物質であることを発見 腸内細菌酵素を投薬ターゲットとする新規治療法の開発へ

### 【研究のポイント】

- 腸内細菌が産生に関わるフェニル硫酸が糖尿病性腎臓病の原因物質の1つであることを明らかにした。
- 糖尿病患者を対象にしたヒトの臨床研究の結果から、フェニル硫酸は糖尿病性腎臓病増悪の予測因子であることが明らかになった。
- フェニル硫酸産生に重要な役割を果たす腸内細菌が持つ酵素チロシン・フェニールリアーゼが糖尿病性腎臓病の新たな治療法開発のターゲットとなり得る。

### 【研究概要】

東北大学大学院医学系研究科および同大学院医工学研究科病態液性制御学分野の阿部高明（あべ たかあき）教授らは、同大学院薬学研究科の富岡佳久（とみおか よしひさ）教授、同東北メディカル・メガバンク機構の寶澤篤（ほうざ わ あつし）教授、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科の和田淳（わだ じゅん）教授らの研究グループとともに、フェニル硫酸が糖尿病性腎臓病の原因因子かつ予測マーカーとなり得ることを明らかにしました。本研究は、動物実験および臨床研究での検証によって、ヒトには無い腸内細菌の酵素をターゲットとした安全な糖尿病性腎臓病の治療可能性を明らかにした画期的研究であり、本研究結果によって、腎不全患者の治療による透析導入数が減少し、医療経済的にも貢献することが期待されます。

本研究成果は、2019年4月23日午前10時（英国時間、日本時間4月23日18時）Nature Communications 誌（電子版）に掲載されました。

本研究は、文部科学省科学研究費補助金（18H02822）の支援を受けて行われました。

## 【研究内容】

糖尿病性腎臓病<sup>注1</sup>は全国に約 1000 万人(厚生労働省 平成 28 年「国民健康・栄養調査」)いる糖尿病患者のうち約 30%で発症し、末期腎不全における透析治療の導入が必要な疾患です。現在、透析を受けている患者は 34 万人にもなります。血液透析は週 3 回の通院が必要であり、また一人あたり年間 500 万円かかることから医療経済の面からも大きな問題となっています。従って糖尿病性腎臓病患者を早期から透析導入を予防することが極めて重要であり、現在厚労省は各地方自治体に「糖尿病性腎症進行予防対策プログラム」の策定を進めています<sup>注2</sup>。しかし、既存の検査項目(血清クレアチン値から求められる推定糸球体濾過量や尿中アルブミンといったマーカー)ではどの患者が糖尿病性腎臓病を発症するリスクが高いか予測することは難しく、また末期腎不全への進行を防ぐ有効な治療法も確立されていないのが現状です。

本研究で阿部教授らのグループは、ヒトの腎臓毒素排泄を模した遺伝子改変ラット(SLCO4C1 ラット<sup>注3</sup>)を用いて、糖尿病性腎臓病の発症時に蓄積し、その排泄を促すことで病気の進行が抑えられる代謝物を網羅的に探索しました。その結果糖尿病性腎臓病による腎障害に関わる重要な代謝物質として、フェニル硫酸(PS)を同定しました(図 1 および 2)。

フェニル硫酸は腎機能が悪化する前から糖尿病性腎臓病の野生型ラットの血液中に蓄積し、糖尿病性腎臓病の遺伝子改変ラットではその濃度が低下していました。また、野生型ラットにおける糖尿病性腎臓病では腎臓の濾過のふるいの目の役割をする腎臓の細胞(ポドサイト<sup>注4</sup>)や基底膜が障害され尿中アルブミンが増加しますが、遺伝子改変ラットではポドサイトや基底膜の障害が減少して尿中アルブミンが低下しました。

そこでフェニル硫酸をさまざまな糖尿病性腎臓病モデルマウスに経口投与したところ、全ての糖尿病性腎臓病モデルでフェニル硫酸の投与によりアルブミン尿が増加しポドサイトや基底膜が障害されました。さらに、このフェニル硫酸のポドサイト障害は、細胞のエネルギーを生産するミトコンドリアに対する毒性によって生じることが明らかになりました(図 3)。

つぎに、岡山大学と共同で実際の糖尿病患者(362 人)の臨床データ(U-CARE 研究)と血中フェニル硫酸の関係を追跡調査したところ、フェニル硫酸は糖尿病患者で高く、その値はアルブミン尿に比例すること(図 4)、また、糖尿病性腎臓病患者のなかでも治療において重要な介入時期とされている微量アルブミン尿期の患者では、フェニル硫酸が腎機能や血糖と独立して 2 年後のアルブミン尿増悪と相関する因子であることが明らかになりました(図 5 および 6)。これらのことから、フェニル硫酸が糖尿病性腎臓病の原因物質である共に、新たな予測因子となる事が明らかとなりました。

さらに、フェニル硫酸を低下させる事がアルブミン尿や腎機能の改善をもたらすかどうか検討しました。フェニル硫酸は、腸内細菌が持つチロシン・フェノールリアーゼ

(TPL)<sup>注5</sup>という酵素によってアミノ酸の1つであるチロシンがフェノールに変換された後、体内に取り込まれ肝臓でフェニル硫酸に変換されてできます。そこで、この腸内細菌のみが持つ TPL を阻害することでフェニル硫酸の産生が抑制されるのではないかと考えました。糖尿病モデルマウスに TPL 阻害剤 (2-AZA-チロシン、2-AZA) を経口投与した結果、糖尿病モデルマウスの血中フェニル硫酸濃度が下がり、アルブミン尿が減少しました (図 7)。さらに、腎不全マウスに 2-AZA を投与したところ、血中フェニル硫酸濃度が下がったと同時に腎不全が改善する事を明らかにしました。この結果は TPL 阻害剤が糖尿病性腎臓病だけでなく腎不全においても有効な治療法である事を示唆しました。

腸内細菌叢を変化させると下痢などの副作用が起きることが知られていますが、2-AZA を投与しても腸内細菌叢を大きく変化させないことから、TPL 阻害剤は副作用が少ない安全な治療法になり得ると考えられました (図 8)。

本研究はフェニル硫酸が糖尿病性腎臓病の原因かつ増悪因子であり、糖尿病性腎臓病の治療にはフェニル硫酸の測定、その原料となる摂取タンパク質の栄養指導 (図 9)、プレバイオティクス・プロバイオティクス<sup>注6</sup>による腸内細菌叢のコントロール、TPL 阻害剤の使用など異なる治療法を組み合わせた対策を行うことによって、フェニル硫酸を低減させることが不可欠であるという新しい治療概念を示しました。

本研究は平成 30 年 12 月 1 日に設立された”東北大学オープンイノベーション戦略機構”の第一号案件に選定されました。今後、この成果をもとに東北大学が核となり多企業が参画し大型産学連携拠点を形成することで新たな医療の開発とその社会実装を目指してゆきます。

## 【用語説明】

- 注1 糖尿病性腎臓病 (Diabetic Kidney Disease) : 腎障害の病態に糖尿病が部分的にでも関わっている腎臓病の総称。
- 注2 糖尿病性腎症進行予防対策プログラム: 慢性維持透析患者の主要原因疾患である糖尿病性腎症の重症化を予防するためのプログラム。厚生労働省が日本医師会、日本糖尿病対策推進会議との協定のもとに策定した。糖尿病性腎症重症化のハイリスク患者の早期発見と適切な治療により重症化を予防するのが狙いで未受診患者らへの受診勧奨や保健指導とも連動し、血液透析患者を減らすことを目的としている。
- 注3 SLCO4C1 ラット: SLCO4C1 は有機アニオントランスポーターの1つでヒトの腎臓に特異的に発現しており、様々な老廃物を尿中に排泄する役割を持っている。ヒトにしかないこのSLCO4C1をラットの腎臓に強制的に発現させヒトの腎臓でのSLCO4C1の働きを動物実験で観察できるようにしたラット。
- 注4 ポドサイト: ポドサイトは腎臓で血液のろ過の中心的役割を担っている糸球体という部位を構成する細胞の1つ。何らかの原因でこのポドサイトが傷害されるとアルブミン尿(蛋白尿)を呈するようになる。HUPECs (human urine-derived podocyte like epithelial cells) はヒト由来のポドサイトと同じ性質をもつ細胞株。
- 注5 チロシン・フェノールリアーゼ (TPL) : アミノ酸の一種であるチロシンをフェノールに変換する酵素。一部の腸内細菌によって産生される酵素でヒトは持っていない。TPLによって産生されたフェノールが腸管から体内に吸収され肝臓で更に代謝されてフェニル硫酸ができる。
- 注6 プレバイオティクス・プロバイオティクス: プレバイオティクスとはオリゴ糖類や食物繊維類に代表されるように大腸に常在する有用菌を増殖させる、もしくは有害な細菌の増殖を抑える効果をもたらす難消化性食品成分のことを指す。これに対してプロバイオティクスは乳酸菌製剤やビフィズス菌製剤、ヨーグルトなどの発酵乳に代表されるように宿主に有益に働く生きた細菌によって構成される添加物のことを指す。

## PS産生経路と腎障害、およびTPL阻害のスキーム

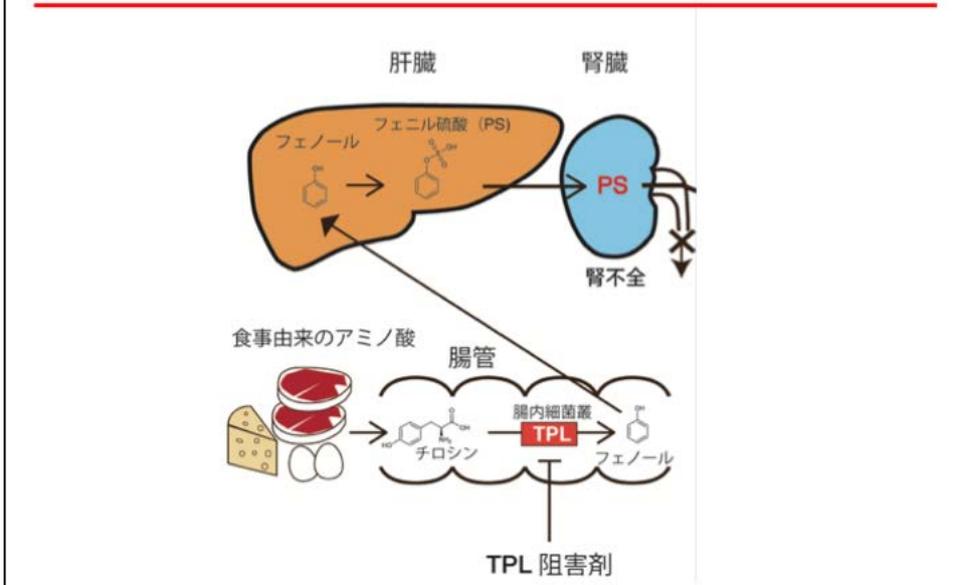


図 1. 食事から摂取するチロシンを原料にフェニル硫酸 (PS) が産生されるまでの経路、および腎臓でのポドサイト障害、TPL 阻害剤の作用点。

## 網羅的メタボローム解析でフェニル硫酸 (PS) を同定

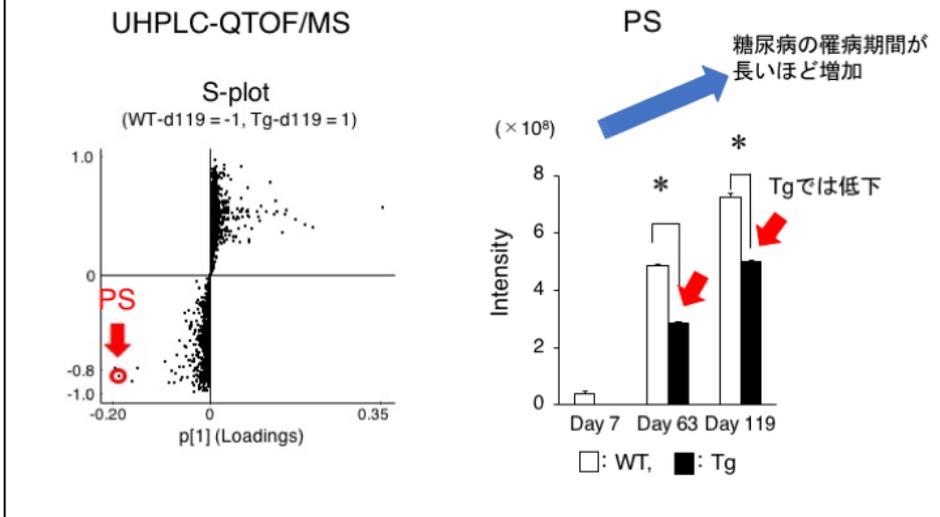


図 2. 糖尿病を誘発した野生型 (WT) マウスと遺伝子改変 (Tg) マウスの血液サンプルについて、網羅的代謝物解析を用いて比較した。その結果、糖尿病の罹病期間とともに濃度が上昇し、Tg ラットでは濃度が低下している代謝物であるフェニル硫酸 (PS) を同定した。

## フェニル硫酸 (PS) によってDKDが悪化

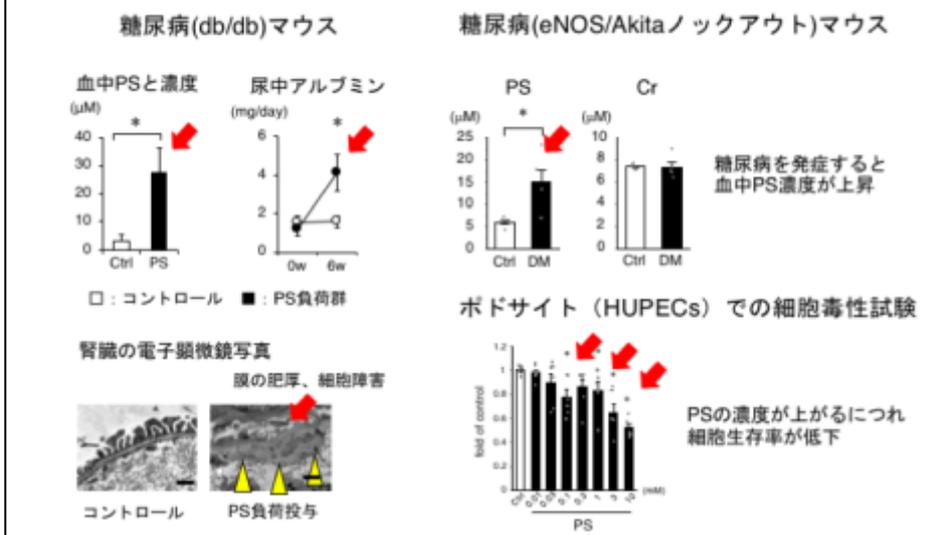


図 3. 糖尿病モデルマウスにおけるフェニル硫酸の影響とポドサイト (HUPECs) 細胞を用いた細胞毒性試験の結果。フェニル硫酸はポドサイト障害性があり、尿タンパクの上昇を引き起こす作用がある。

## PSはアルブミン尿（ACR）と有意に相関する

PSを目的変数とした重回帰分析の結果

		95%CI		p
	<b>Log ACR</b>	<b>0.009</b>	<b>0.146</b>	<b>0.028</b>
	年齢	-0.0001	0.018	0.053
	性別	-0.333	0.038	0.119
	BMI	-0.032	0.013	0.395
	収縮期血圧	-0.009	0.003	0.337
	HbA1c	-0.138	0.040	0.280
	Log eGFR	-0.758	0.058	0.093

年齢、性別、BMI、血圧、HbA1c、腎機能（eGFR）はアルブミン尿増悪の危険因子として知られている既知因子

図 4. フェニル硫酸と臨床パラメータとの関連。フェニル硫酸はアルブミン尿（ACR）と関連が強いとされる既知因子やその他の一般的な臨床項目と合わせて解析しても有意にアルブミン尿と相関する。

## PSは糖尿病患者のアルブミン尿の増悪を予測する

糖尿病患者を対象にした臨床コホート研究（U-CARE）362人で解析  
特に微量アルブミン尿期（87人）において  
PSは2年後のアルブミン尿増悪を予測する唯一の因子

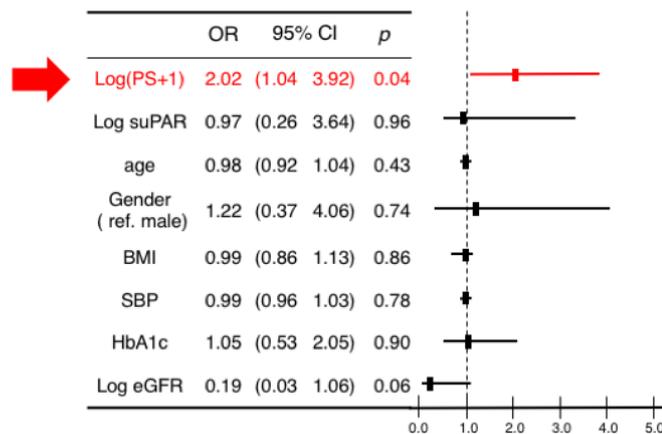


図 5. 糖尿病患者を対象とした臨床コホート（U-CARE:362人）を用いて 2年後のアルブミン尿増悪を予測する因子について行ったロジスティック回帰分析。微量アルブミン尿期症例（87人）を対象とした解析でフェニル硫酸が 2年後のアルブミン尿増悪を予測する唯一の因子であった。

suPAR:DKDのマーカ、age:年齢、Gender:性別、SBP:収縮期血圧、BMI: Body Mass Index、HbA1c:糖尿病の指標、eGFR:腎機能の指標

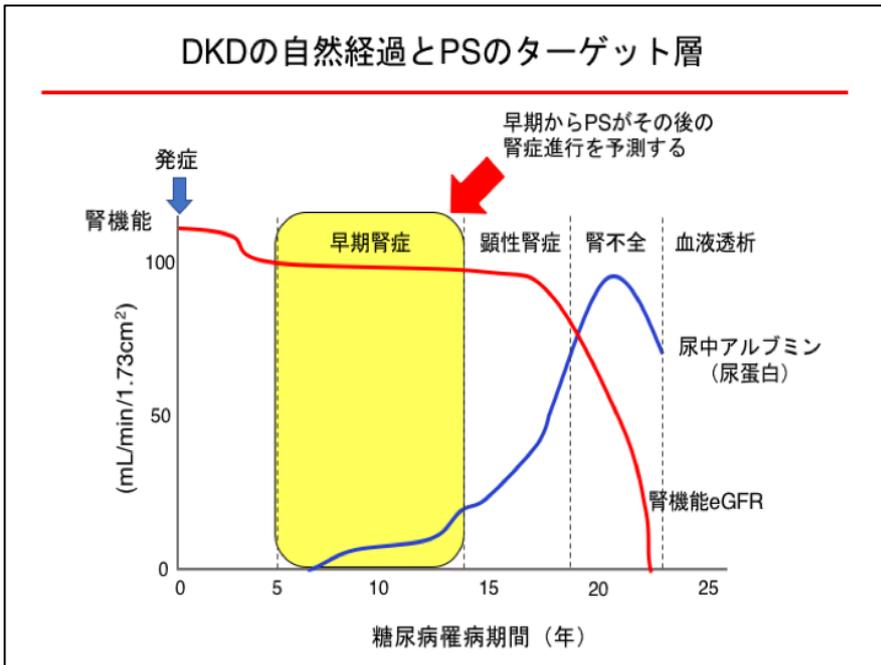


図 6. PS は腎機能が保たれている早期の段階から将来的な DKD の進行のリスクを予測するマーカーとなる。

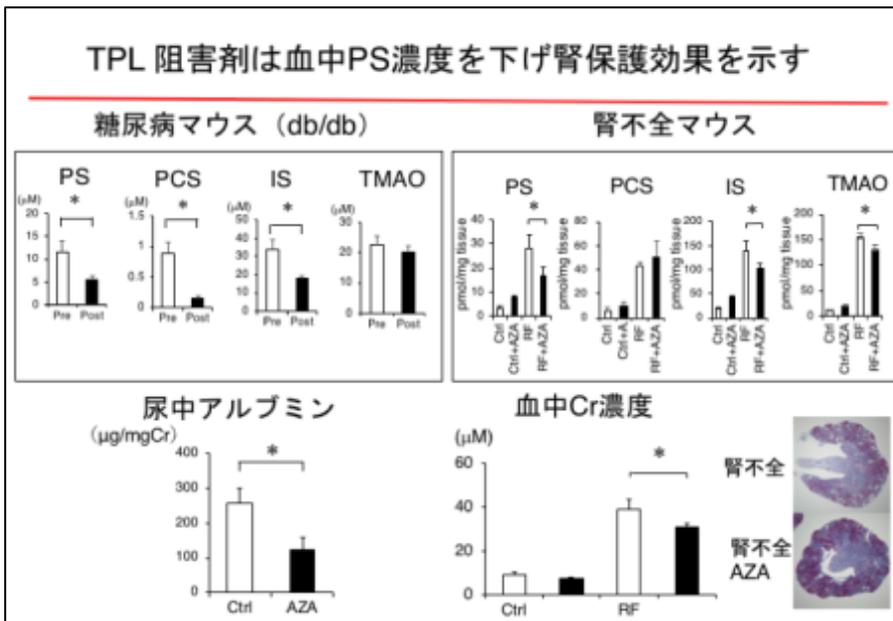


図 7. TPL 阻害剤である(2-AZA-tyrosine:AZA)を糖尿病と腎不全マウスに投与した結果、フェニル硫酸濃度は低下しアルブミン尿の減少や、血中クレアチニン(Cr)濃度の改善が認められた。

PCS: パラクレシル硫酸、IS: インドキシル硫酸、TMAO: トリメチルアミン N オキドは尿毒症物質。

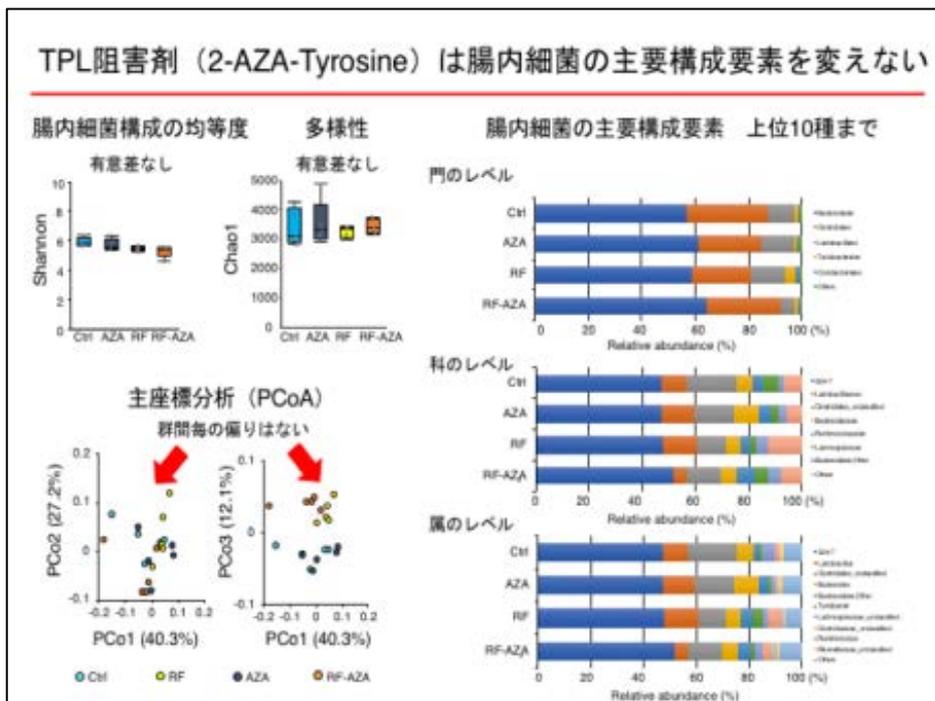


図 8. TPL 阻害剤(2-AZA-Tyrosine)を投与した腎不全マウスの糞便を用いた腸内細菌叢解析。2-AZA-Tyrosine 投与により腸内細菌構成の均等度(Shannon)、多様性(Chao1)、細菌叢クラスターの違いや主要な構成細菌の差は認めない(下痢などの副作用が少ない)。

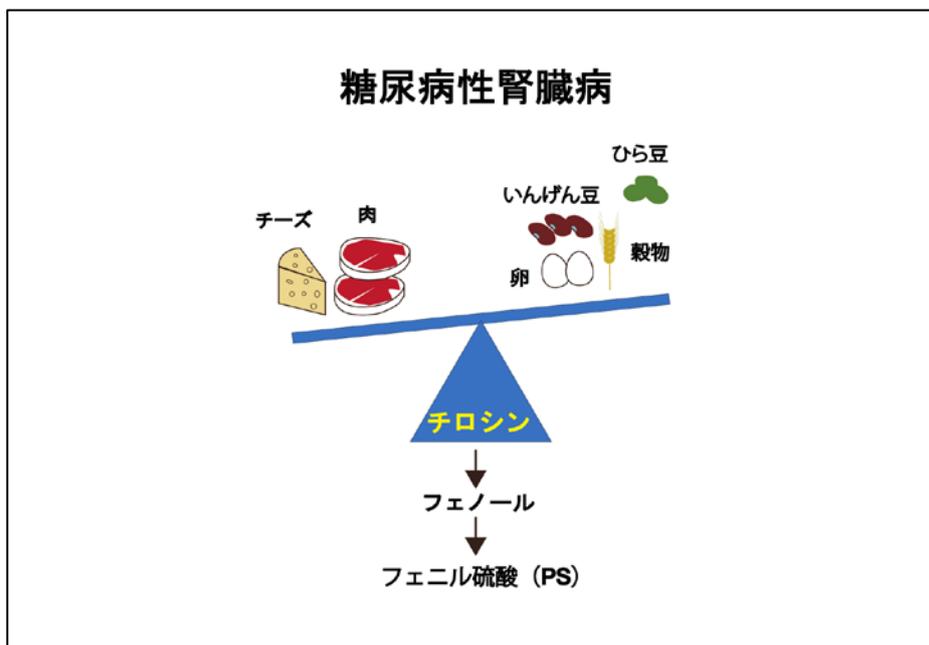


図 9. 糖尿病性腎症における食事療法の重要性を示した概念図。

**【論文題目】**

Title: Gut microbiome-derived phenyl sulfate contributes to albuminuria in diabetic kidney disease.

Authors: Koichi Kikuchi, Daisuke Saigusa, Yoshitomi Kanemitsu, Yotaro Matsumoto, Paxton Thanai, Naoto Suzuki, Koki Mise, Hiroaki Yamaguchi, Tomohiro Nakamura, Kei Asaji, Chikahisa Mukawa, Hiroki Tsukamoto, Toshihiro Sato, Yoshitsugu Oikawa, Tomoyuki Iwasaki, Yuji Oe1, Tomoya Tsukimi, Noriko N. Fukuda, Hsin-Jung HO, Fumika Nanto-Hara, Jiro Ogura, Ritsumi Saito, Shizuko Nagao, Yusuke Ohsaki, Satoshi Shimada, Takehiro Suzuki, Takafumi Toyohara, Eikan Mishima, Hisato Shima, Yasutoshi Akiyama, Yukako Akiyama, Mariko Ichijo, Tetsuro Matsuhashi, Akihiro Matsuo, Yoshiaki Ogata, Ching-Chin Yang, Chitose Suzuki, Matthew C. Breeggemann, Jurgen Heymann, Miho Shimizu, Susumu Ogawa, Nobuyuki Takahashi, Takashi Suzuki, Yuji Owada, Shigeo Kure, Nariyasu Mano, Tomoyoshi Soga, Takashi Wada, Jeffery Kopp, Shinji Fukuda, Atsushi Hozawa, Masayuki Yamamoto, Sadayoshi Ito, Jun Wada, Yoshihisa Tomioka & Takaaki Abe

Journal: Nature Communications

DOI: 10.1038/s41467-019-09735-4

**【お問い合わせ先】**

(研究に関すること)

東北大学大学院医学系研究科

病態液性制御学分野

教授 阿部 高明(あべ たかあき)

電話番号:022-717-7163

Eメール:takaabe@med.tohoku.ac.jp

(取材に関すること)

東北大学大学院医学系研究科・医学部広報室

電話番号: 022-717-7891

FAX 番号: 022-717-8187

Eメール: pr-office@med.tohoku.ac.jp