

2022年11月9日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学東北メディカル・メガバンク機構
国立大学法人東北大学大学院医学系研究科

転写因子 Nrf2 による糖尿病性腎臓障害の保護作用 ～ストレス応答性転写因子 Nrf2 と糖尿病性腎臓病～

【発表のポイント】

- ・ 自然発症糖尿病モデルマウスである Akita マウス^{*1}と、転写因子 Nrf2^{*2}の遺伝子ノックアウトマウス^{*3}を組み合わせた複合変異マウスの腎臓では、酸化ストレス、炎症、線維化が増加していることがわかりました。
- ・ Nrf2 遺伝子ノックアウト Akita マウスでは、血液中で尿毒症物質が増加し、腎臓の糸球体^{*4}や尿細管^{*5}が障害を受けるなど、糖尿病で引き起こる変化が悪化していることが明らかになりました。
- ・ Keap1^{*6}の遺伝子改変による Nrf2 活性化マウスと Akita マウスを組み合わせた複合変異マウスの腎臓では、尿細管の変化が抑制されていました。Nrf2 は糖尿病で引き起こる障害から腎臓を保護していることが明らかになりました。

【概要】

糖尿病性腎臓病^{*7}は重症化すると血液透析導入の可能性もある重要な疾患ですが、進行を抑える治療が主流で本質的な治療法は存在しません。糖尿病では、酸化ストレスや炎症を原因とする腎臓の障害が知られています。Nrf2 は、酸化ストレスを消去する因子の発現量を増加させ、炎症を引き起こす因子の発現量を低下させます。

東北大学東北メディカル・メガバンク機構の宇留野晃准教授らのグループは、糖尿病モデル Akita マウスと Nrf2 の遺伝子ノックアウトマウスを組み合わせた複合変異マウスの腎臓では、腎臓の糸球体の毛細血管および酸化ストレスが増加した尿細管が拡大し、血液中の尿毒症物質の濃度が上昇することを発見しました。Akita マウスで Nrf2 を活性化すると、尿細管での円柱^{*8}の形成が軽減することがわかりました。

現在、糖尿病性腎臓病に対する治療薬として、Nrf2 を活性化する薬剤の臨床試験が進められています。本研究で得られた知見を利用することで、糖尿病性腎臓病の新しい治療法の開発が加速することが期待されます。この成果は、学術誌 Redox Biology オンライン版で2022年11月3日に公開されました。

【本研究の詳細】

糖尿病では、経過中に腎臓が障害を受けるケースが多いことがよく知られています。これは、糖尿病性腎臓病と呼ばれ、重症化すると血液透析導入が必要となることから、大変に重要な病態です。現在、糖尿病性腎臓病の進行を遅らせるための治療が主となっていますが、最終的に血液透析導入にいたる糖尿病患者は多く、さらなる治療法が必要とされています。

糖尿病では、腎臓で酸化ストレスや炎症が増加し、腎臓障害の進展に重要な役割を果たすことが知られてきました。転写因子 **Nrf2** は、酸化ストレスを軽減するための酵素の遺伝子の発現量を増加させ、一方で炎症因子の遺伝子の発現量を低下させます。このように **Nrf2** の活性化は、酸化ストレスや炎症を抑制し、**Nrf2** 活性化剤であるバルドキシロンメチルによる、糖尿病性腎臓病に対する臨床試験が進められていることから、**Nrf2** は糖尿病性腎臓病の治療標的として注目されています。

従来はげっ歯類での糖尿病性腎臓病の研究には、ストレプトゾトシン^{*9} という薬剤による糖尿病モデルがよく利用されてきました。糖尿病性腎臓病における **Nrf2** の役割について、これまでにストレプトゾトシンによる糖尿病モデルを利用した解析が報告されてきました。ところが、ストレプトゾトシン糖尿病モデルには、血糖値上昇以外に、薬剤の副作用としても腎臓が障害を受ける欠点がありました。

一方 **Akita** マウスは、血糖降下ホルモンであるインスリン遺伝子の自然変異による糖尿病モデルです。**Akita** マウスは薬剤の副作用による腎臓障害が発生しないことから、詳細な糖尿病の合併症の研究を可能とする糖尿病モデルと考えられています。

東北大学の宇留野晃准教授(東北メディカル・メガバンク機構 (ToMMo))、山本雅之教授 (ToMMo・機構長)の研究グループでは、**Akita** マウスを利用して、糖尿病性腎臓病における **Nrf2** の役割について、詳細な解析を実施しました。**Nrf2** 遺伝子ノックアウトマウスは、遺伝子の改変により、正常な **Nrf2** が欠損したマウスですが、**Akita** マウスを組み合わせた **Nrf2** ノックアウト **Akita** マウスの腎臓の解析を行いました。

Akita マウスでは、糖尿病の特徴である著明な尿量増加を認めましたが、**Nrf2** をノックアウトした **Akita** マウスでは、さらに尿量が増加していました。採取した血液を用いてメタボローム解析^{*10}を行ったところ、**Nrf2** ノックアウト **Akita** マウスで、トリメチルアミン-*N*-オキシド (TMAO) やインドール-3-酢酸 (IAA) といった尿毒症物質^{*11} の血中濃度増加を認めました。

質量分析イメージング^{*12} という手法を用いて、腎臓組織の抗酸化物質であるグルタチオン^{*13} 分子の分布を評価したところ、**Akita** マウスの腎臓では、腎臓の表面に近い皮質と呼ばれる領域でグルタチオンが多く分布していましたが、**Nrf2** ノックアウト **Akita** マウスでは、腎臓全体でグルタチオンが低下していることがわかりました(図 1)。すなわち、**Nrf2** は、糖尿病の腎臓における抗酸化作用に大きな影響を及ぼしている

ことが明らかとなりました。

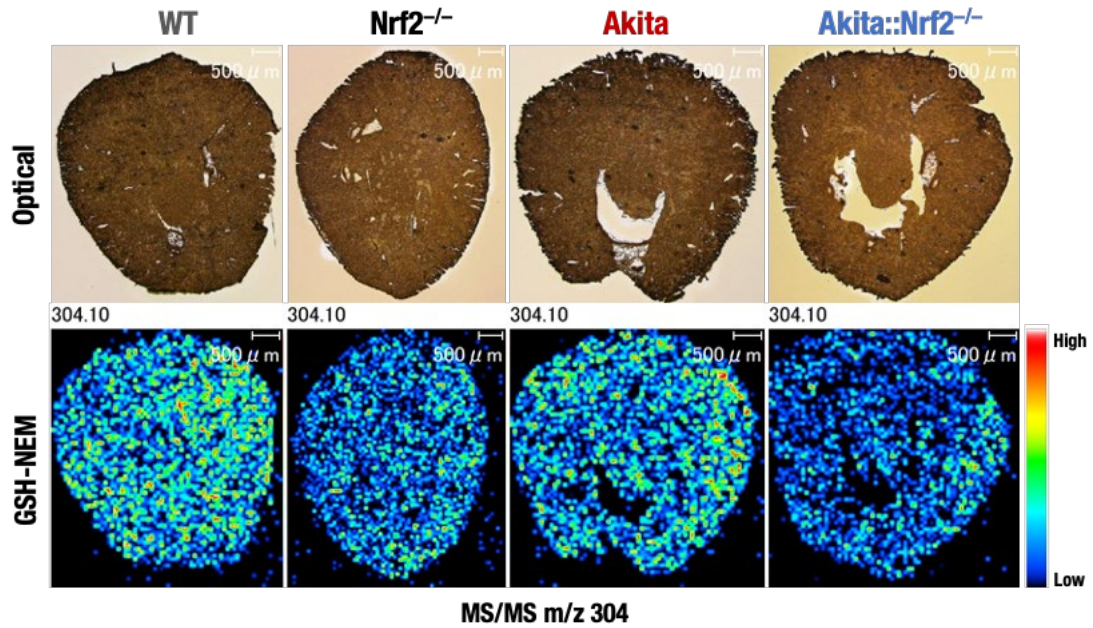
また、組織を用いて腎臓の解析を行ったところ、Nrf2 ノックアウト Akita マウスの腎臓では、炎症や線維化といった、腎臓障害に重要な変化が悪化していました(図 2)。さらに詳細な腎臓組織の解析を行ったところ、腎臓内の糸球体と呼ばれる部位の微小血管の内腔が拡大していました。さらに腎臓内の尿細管と呼ばれる管腔構造も拡大していましたが、この拡大した尿細管の細胞で酸化ストレスが増加していました。このように、Nrf2 が発現していないマウスでは、糖尿病で引き起こる腎臓の変化が加速していることがわかりました。

さらに、Nrf2 の役割を解析するために、Nrf2 を調節している Keap1 遺伝子を改変した Keap1 ノックダウンマウス^{*14}を用いました。Keap1 ノックダウンマウスは Keap1 の発現量が低いことが特徴ですが、Keap1 は Nrf2 を抑制する役割を持つことから、Keap1 ノックダウンマウスでは Nrf2 が活性化されています。Akita マウスと Keap1 ノックダウンを組み合わせた Keap1 ノックダウン Akita マウスを解析しました。

Keap1 ノックダウンにより Nrf2 が活性化した Akita マウスでは、通常の Akita マウスと比較して、血糖値上昇が抑制されていました。腎臓の病理学的解析を行ったところ、Akita マウスの尿細管には、円柱と呼ばれる凝固沈殿物が観察されますが、Nrf2 ノックアウト Akita マウスでは、円柱が増加しており、Keap1 ノックダウンした Akita マウスでは、円柱がほとんど観察されず、腎臓が保護されていることがわかりました(図 3)。このように、Nrf2 を活性化すると糖尿病が改善し、腎臓の変化も改善することが明らかになりました。

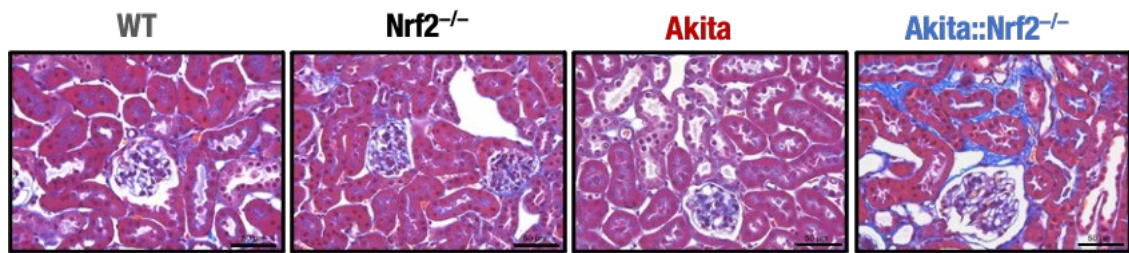
【今後の展望】

本研究の成果により、Nrf2 は糖尿病の腎臓の障害を抑制する働きをしていることが明らかになりました。現在バルドキシロンメチルを用いた糖尿病性腎臓病における臨床試験が進められています。本研究成果で得られた Nrf2 の糖尿病における腎臓障害における役割に関する知見により、今後の臨床応用が加速することが期待されます。



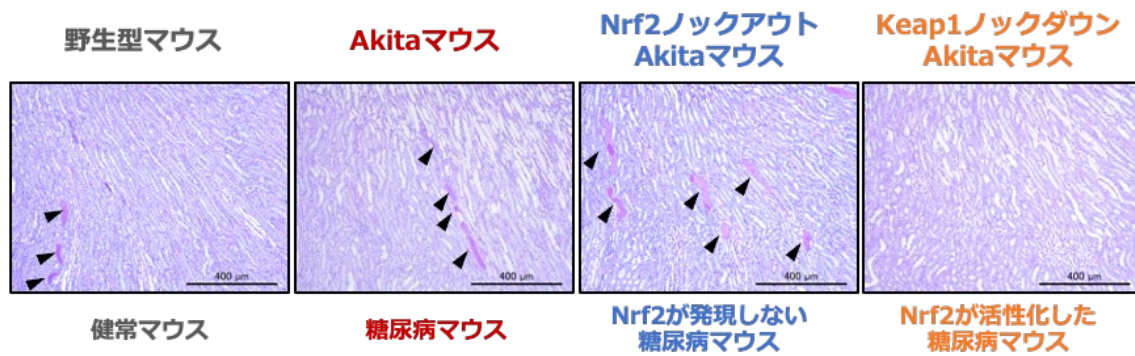
【図 1】 腎臓における抗酸化分子グルタチオンの分布

質量分析イメージングによる、抗酸化分子グルタチオンの分布。糖尿病モデルである Akita マウスでは、腎臓の表面に近い皮質と呼ばれる領域でグルタチオンが多く分布していたが、Nrf2 ノックアウト Akita マウスでは、腎臓全体でグルタチオンが低下していた。



【図 2】 Nrf2 遺伝子ノックアウトによる腎臓の線維化の変化

マッソントリクローム染色と呼ばれる、線維を青く染める病理組織解析手法を用いて、腎臓を線維化の評価を行った。Nrf2 ノックアウト Akita マウスの腎臓では、青い領域が増えており、線維化が悪化したことがわかる。



【図 3】 Nrf2 活性化による腎臓尿細管の円柱の抑制

PAS 染色と呼ばれる病理組織解析手法を用いて、腎臓の組織での変化を評価した。Nrf2 遺伝子をノックアウトしたマウスの腎臓では、三角で示した領域に、円柱と呼ばれる変化が増加していたが、Nrf2 を活性化したマウスの腎臓では、この変化が消失していた。

【用語説明】

※1 Akita マウス

インスリン遺伝子の自然変異による糖尿病モデルマウスで、糖尿病の合併症の研究に有用なモデルである。

※2 転写因子 Nrf2

転写因子とは DNA に結合して遺伝子の発現を制御するタンパク質の総称。転写因子 Nrf2 は、酸化ストレスなどのストレスに応答して活性化し、酸化ストレスを軽減する酵素の遺伝子発現を増加させ、炎症を引き起こす因子の遺伝子発現を低下させることで、細胞をストレスから保護する働きを担っている。

※3 遺伝子ノックアウトマウス

遺伝子工学手法を用いて、染色体の遺伝子座に変異を導入して、特定の遺伝子を無効化した遺伝子改変マウス。遺伝子産物の機能を調べるために重要なモデル動物である。

※4 糸球体

腎臓で血液から老廃物をろ過する役割を持つ毛細血管の集まった球状の構造体。

※5 尿細管

糸球体でろ過された原尿から、必要な成分を再び血液中に吸収することで尿と血液の調節を行う、管腔状の構造体。

※6 Keap1

転写因子 Nrf2 に結合するタンパク質。Keap1 に含まれるシステインというアミノ酸が酸化ストレスのセンサーとして機能し、さらに Nrf2 のタンパク質の分解を調節するためのアダプターとして機能してその活性を調節している。

※7 糖尿病性腎臓病

典型的な糖尿病性腎症に加え、顕性アルブミン尿を伴わないまま糸球体濾過量が低下する非典型的な糖尿病関連腎疾患を含む疾患。

※8 円柱

腎臓の尿細管で、尿細管内容物が尿細管腔を鋳型として固まったもの。さまざまな腎臓の障害で発生する。

※9 スレプトゾトシン

膵臓に発生する腫瘍の治療に用いられる薬剤。血糖降下ホルモンであるインスリンを分泌する膵臓の細胞に取り込まれ、破壊することで糖尿病を発症することが知られる。

※10 メタボローム解析

生命活動によって生じる代謝物を網羅的に解析することで生命現象を明らかにしようとする解析。

※11 尿毒症物質

腎不全病態での生体障害因子。

※12 質量分析イメージング

代謝物を測定する質量分析を利用して、組織の中での代謝物分布の解析を実現した測定技術。

※13 グルタチオン

細胞内に高濃度で存在する抗酸化物質。グルタチオンの生成に関わる酵素の遺伝子群は、転写因子 Nrf2 により調節されている。

※14 Keap1 ノックダウンマウス

遺伝子改変により、全身の *Keap1* 遺伝子発現が低下したマウス。*Keap1* は、Nrf2 のタンパク質分解を介在し、Nrf2 の転写活性を抑制することで酸化ストレスを軽減するための酵素の遺伝子発現量を調節している。*Keap1* の発現が低下している本マウスは、Nrf2 の転写活性が恒常的に促進している Nrf2 活性化モデルマウスである。

【論文題目】

Nrf2 deficiency deteriorates diabetic kidney disease in Akita model mice

「Nrf2 欠損は Akita マウスの糖尿病性腎臓病を悪化させる」

掲載誌: Redox Biology

掲載日: 2022 年 11 月 3 日

DOI: 10.1016/j.redox.2022.102525

【著者】

○東北大学大学院医学系研究科医化学分野 Yexin Liu

○東北大学東北メディカル・メガバンク機構 宇留野晃[†]、齋藤律水、松川直美、菱沼英史[#]、三枝大輔[‡]、山本雅之[†]

○中南大学 Xiangya Hospital Hong Liu

[†]東北大学大学院医学系研究科を兼任、[#]東北大学未来型医療創成センターを兼任、

‡現所属先は帝京大学薬学部(東北大学東北メディカル・メガバンク機構を兼任)

【研究支援】

本研究は、文部科学省科学研究費補助金、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム(BINDS)の支援を受けて行われました。

【お問い合わせ先】

<研究内容に関すること>

東北大学 東北メディカル・メガバンク機構機構長

東北大学 大学院医学系研究科 医化学分野

教授 山本 雅之(やまもと まさゆき)

電話番号:022-717-8084

Eメール:masiyamamoto@med.tohoku.ac.jp

東北大学 東北メディカル・メガバンク機構

ゲノム解析部門

准教授 宇留野 晃(うるの あきら)

電話番号:022-273-6210

Eメール:uruno@med.tohoku.ac.jp

<報道担当>

東北大学 東北メディカル・メガバンク機構

広報・企画部門

長神 風二(ながみ ふうじ)

電話番号:022-717-7908

FAX:022-717-7923

Eメール:pr@megabank.tohoku.ac.jp