

論文内容の要旨

論文提出者氏名 亀崎 通嗣

論文題目

Comprehensive renoprotective effects of ipragliflozin on early diabetic nephropathy in mice.

論文内容の要旨

透析患者数は年々増加しており、2016年末で329609人にまで達している。また、糖尿病患者の増加に伴い、糖尿病性腎症は透析導入の原疾患第1位となっている。このため、糖尿病性腎症の進行を早急に食い止める対策が必要とされている。このような状況の中、新しい糖尿病治療薬であるSGLT2 (sodium glucose cotransporter2) 阻害薬が臨床使用できるようになった。SGLT2は糸球体から濾過されたナトリウム (Na) とグルコース (Glu) を近位尿細管にて再吸収する輸送体として働いている。SGLT2阻害薬は尿細管でのGluの再吸収をブロックし、尿への糖排泄を促すことで、血糖値を低下させることができる。そのSGLT2阻害薬には血糖改善効果のみならず、腎保護作用もあることが大規模臨床試験にて相次いで報告されるようになった。この腎保護メカニズムには血糖是正による腎症進展抑制機序の他に、近位尿細管におけるNa再吸収に起因する、糸球体過剰濾過の是正を介した機序もあると推測されている。しかし、詳細な検証は行われておらず、SGLT2阻害薬による腎保護メカニズムに関しては未だ明らかとはなっていないのが現状である。

そこで、我々はこの腎保護メカニズムを解明するため、2型糖尿病モデルマウスであるdb/dbマウスに少量:0.3mg/kg (=db/db-LD群)、大量:3.0mg/kg (=db/db-HD群)のSGLT2阻害薬ipragliflozinを8週間経口投与した。vehicleのみを投与したdb/db群では血糖値は500mg/dLまで上昇したが、db/db-HD群では300mg/dLと有意に低下し、血糖改善効果を認めた。一方、db/db-LD群では有意な血糖改善効果を認めなかった。しかし、db/db-LD群、db/db-HD群ではアルブミン尿の減少効果を認め、SGLT2阻害薬には腎保護作用があると確認できた。糖尿病性腎症進行の指標と考えられている、このアルブミン尿が出現する原因には糸球体からのアルブミン漏出、尿細管でのアルブミン再吸収の低下が挙げられる。これら糸球体障害及び尿細管障害に対して、SGLT2阻害薬がどのように保護作用を示すのかについて、我々はまずは尿細管から順番に検討することとした。

糖尿病患者では糸球体から濾過されるGluが増加するが、代償機構としてSGLT2の発現と活性も高まるため、尿細管でのGluの再吸収も亢進し、高血糖が持続する。この結果、Nox4 (NADPH oxidase 4) を介して、尿細管に酸化ストレスが惹起されると予想した。一方、

Gluと同時に、尿細管上皮細胞に取り込まれたNaはNa/Kポンプで細胞外に出されるが、この際にATPの消費・産生が亢進するため、細胞は低酸素に陥ると予想した。以上より、我々は尿細管における、酸化ストレスと低酸素の評価を順次行うこととした。3-Nitrotyrosineの免疫染色では、酸化ストレスを受けた尿細管がdb/db群において多数認められたが、SGLT2阻害薬の投与により、用量依存的にこれが減少した。この時、定量的PCR法でNox4の発現量も同様に低下していた。一方、Pimonidazoleの免疫染色では、低酸素状態に陥った尿細管がdb/db群において多数認められたが、その低酸素障害はSGLT2が局在する皮質の尿細管においてのみ、少量投与群でも大量投与群と同程度に改善を認めた。以上より、この低酸素改善効果は血糖とは独立した保護作用であると考えられた。この時、定量的PCR法でKim-1やNgalなどの尿細管障害マーカーも薬剤投与により減少していたことから、SGLT2阻害薬には酸化ストレスや低酸素の是正を介した尿細管保護作用があると考えられた。

尿細管に続き、SGLT2阻害薬による糸球体保護作用の検討も行った。PAS染色で糸球体を観察したところ、db/db群において糸球体が有意に腫大しており、糸球体過剰濾過が予想されたが、この糸球体腫大は少量投与群でも大量投与群と同程度に改善していた。以上より、この糸球体過剰濾過の抑制効果も血糖とは独立した保護作用であると考えられた。3-Nitrotyrosineの免疫染色では、酸化ストレスを受けた糸球体上皮細胞がdb/db群において多数認められたが、SGLT2阻害薬の投与により、用量依存的にこれが減少した。この時、糸球体の分子の動きを調べるため、我々は磁気ビーズを用いて糸球体単離を行った。単離糸球体の定量的PCR法ではNox4の発現量も同様に低下していた。Synaptopodinなどの糸球体上皮細胞マーカーの発現量はdb/db群ではダメージを受けて減少していたが、薬剤投与により回復していた。さらに、電子顕微鏡を観察したところ、db/db群では糸球体上皮細胞の足突起が消失していたが、薬剤投与によりその形態が回復していた。以上より、SGLT2阻害薬には尿細管のみならず、糸球体過剰濾過や糸球体酸化ストレスの是正を介した糸球体保護作用もあると考えられた。

本研究によって、SGLT2阻害薬による腎保護作用は多面的に起こることが明らかとなった。このうち、酸化ストレスの改善効果は尿細管と糸球体の双方で用量依存的に認められたことから、血糖是正に伴う機序であることが示唆された。一方、SGLT2阻害薬による近位尿細管でのNa再吸収の抑制といった働きに起因する、尿細管の酸素化改善や糸球体過剰濾過の是正といった効果は血糖とは独立して得られることを本研究にて初めて明らかにすることができた。このことから、SGLT2阻害薬は糖尿病治療薬としての側面だけでなく、腎保護薬にもなり得る薬剤であることが示唆された。