

特集：糖尿病性腎症

糖尿病性腎症の成因としての Microinflammation

四方賢一

糖尿病血管障害と Microinflammation

腎症の成因の最上流に位置するものは高血糖であるが、高血糖から腎組織障害に至る過程にはさまざまな経路が想定されている。糖尿病性腎症の腎組織にはマクロファージを主体とする炎症細胞浸潤が見られ、細胞接着分子、ケモカインの発現と炎症性サイトカインの増加など、炎症と共通した特徴が認められる。このため、われわれはこれまで、糖尿病性腎症の成因に炎症が関与しているとする仮説のもとに研究を進めてきた。

一方、動脈硬化の成因に炎症が関与することは、1990年代に Ross によって提唱され、現在では広く支持されている¹⁾。ここでの「炎症」とは、関節リウマチなどの炎症性疾患にみられる「発熱、発赤、疼痛、腫脹、機能障害」を主徴とする従来の炎症の概念とは異なり、高感度測定キットで検出される CRP の軽度の上昇(高感度 CRP : hsCRP) などによって特徴づけられる血管を主座とする軽微な炎症を意味しており、microinflammation や low grade inflammation などと呼ばれている。Microinflammation の基本的病態の一つは内皮細胞障害であり、病理学的には、多くの炎症性疾患と同様に、血管壁に細胞接着分子、ケモカインの発現亢進とマクロファージの浸潤を認める。

糖尿病性腎症と動脈硬化を比較すると、病変の主座となる血管の大きさや構造は大きく異なっているが、細胞接着分子やケモカインの発現とマクロファージの浸潤など、両者の間には多くの共通した特徴が認められる。したがって、microinflammation は糖尿病における大血管障害と細小血管障害に共通したメカニズムと言えるであろう。最近、腎障害が冠動脈疾患の危険因子となることが注目されているが(心腎連関)、このことも、腎障害と動脈硬化の間

Microinflammation in the pathogenesis of diabetic nephropathy

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学

に内皮細胞障害に伴う炎症という共通の病態が存在することを示唆している。

糖尿病性腎症におけるマクロファージの浸潤

糖尿病性腎症における炎症細胞の浸潤は、糸球体腎炎の腎組織に比較すると目立たないために、従来あまり注目されてこなかった。しかしながら、腎症患者の腎生検組織を免疫組織学的に検討すると、糸球体や間質におけるマクロファージの数は、正常な腎組織に比較して明らかに増加している。マクロファージは抗原提示作用、貪食作用、サイトカイン・成長因子の産生など多彩な機能を持ち、免疫反応など生体防御に重要な役割を担う一方で、活性化マクロファージは局所で炎症性サイトカイン、プロテアーゼや一酸化窒素(NO)を放出することにより、組織傷害の重要な進展因子となっている。

糖尿病性腎症患者の腎組織に浸潤する白血球を詳細に解析した最初の報告は Furuta らの研究である。彼らの報告によると、マクロファージの浸潤は糸球体障害が中等度に進行した症例に多く認められ、高度に糸球体硬化が進行した例にはむしろ少ない²⁾。このことは、マクロファージが腎症の進展過程に関与していることを示唆している。一方われわれも、糖尿病性腎症患者の腎組織には、糸球体のみならず間質にも多くのマクロファージの浸潤が認められることを報告した³⁾。糖尿病性腎症では、尿細管・間質病変が高頻度に認められ、特に間質の線維化は腎症の予後に強く相関する。間質に浸潤したマクロファージは、間質の線維化の成因に関与していることが示唆される。

炎症巣への白血球の浸潤は、白血球と内皮細胞の両者に発現する細胞接着分子間の結合と、ケモカインによって誘導される(図 1)。糸球体では、内皮細胞に ICAM-1 をはじめとする接着分子が発現し、白血球は内皮細胞と接着した後にメサングウム領域に浸潤する。一方、間質では尿細

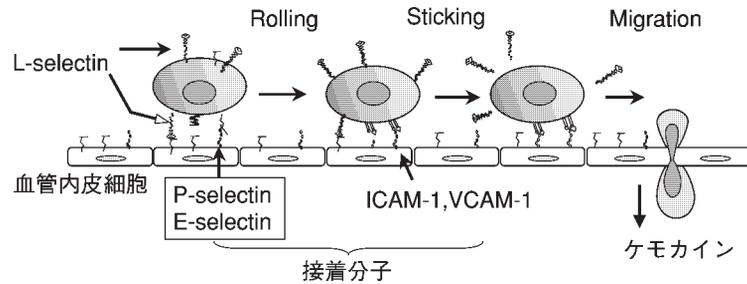


図 1 炎症巣への白血球浸潤のメカニズム

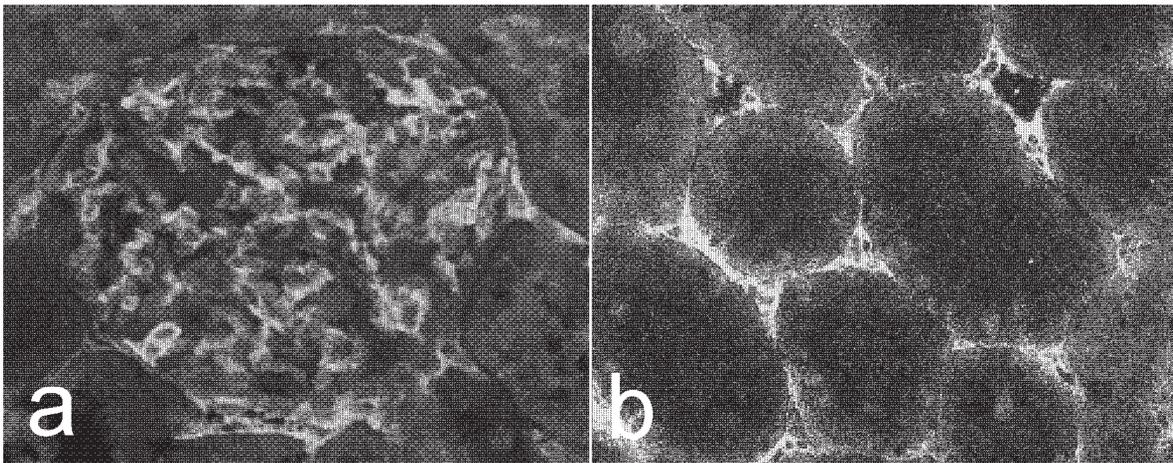


図 2 糖尿病ラットの糸球体(a)と間質(b)における ICAM-1 の発現

管と接して走行する peritubular capillary の内皮細胞と髄質の血管に接着分子の発現がみられ、白血球はこれらの内皮細胞との接着を介して間質へと浸潤する⁴⁾。われわれは、糖尿病性腎症患者の腎組織では、糸球体や間質の小静脈に ICAM-1 と E-セレクトリン、P-セレクトリンの発現が亢進していることを見出した³⁾(図 2)。これらの接着分子は、糸球体と間質へのマクロファージの浸潤を誘導していると考えられる。炎症性疾患では、血管内皮細胞における発現亢進の結果として、ICAM-1 や VCAM-1 などの血液中濃度が上昇することが知られているが、糖尿病患者においても、血中可溶性 ICAM-1 および VCAM-1 濃度が増加しており、腎症を有する患者では腎症のない患者よりもさらに高値となる^{5,6)}。また、糖尿病性腎症患者の腎生検組織に MCP-1 や IL-6 などのケモカイン、サイトカインが発現していることも報告されている^{7,8)}。

一方、ストレプトゾトシンで糖尿病を誘発したラットの腎臓では、糖尿病誘発後 1 週間以内に ICAM-1 の発現とマクロファージの浸潤が見られ、6 カ月以上持続する⁸⁾。インスリンで血糖を正常化することによって ICAM-1 の発現とマクロファージの浸潤は抑制され、抗 ICAM-1 抗

体を投与するとマクロファージの浸潤が抑制されることから、高血糖に伴って糸球体と間質の内皮細胞に ICAM-1 の発現が増加し、マクロファージの浸潤を誘導していると考えられる⁹⁾。

糖尿病状態の内皮細胞に ICAM-1 の発現が誘導されるメカニズムには、1) 浸透圧の上昇、2) 酸化ストレス、3) 血管内皮細胞上の受容体(RAGE)を介した AGEs の刺激、4) 糸球体内の血行動態の変化(血流の増加)による shear stress の亢進、5) protein kinase C の活性化、などが関与することが知られている。糖尿病患者の腎臓では、おそらくこれらのメカニズムが複合的に関与して ICAM-1 の発現が亢進するものと考えられる。

糖尿病性腎症の成因における Microinflammation

糖尿病性腎症の腎組織に浸潤するマクロファージの役割に関しては、放射線照射で白血球を減少させたラットでは、糖尿病発症後の腎症の進展が軽減すること¹⁰⁾、免疫抑制薬でマクロファージの浸潤を減少させることによって腎症を抑制できること¹¹⁾、などの報告があり、糖尿病性腎症

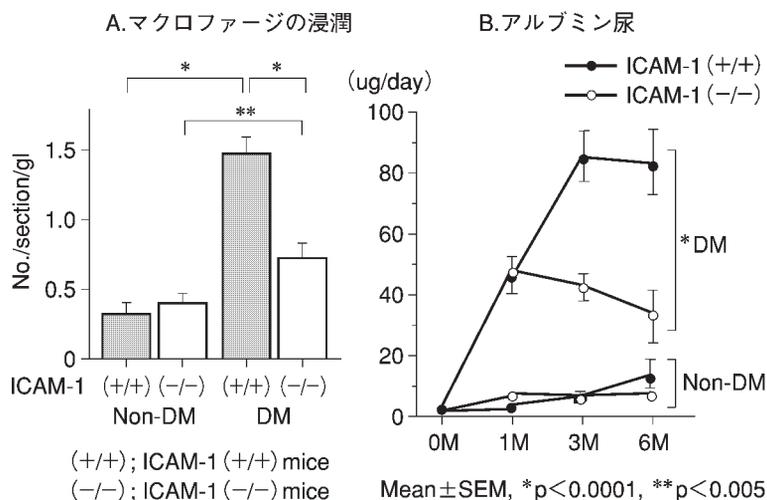


図3 ICAM-1 ノックアウトマウスにおける糖尿病性腎症の変化
 ストレプトゾトシンで糖尿病を発症させた ICAM-1 ノックアウトマウス (ICAM-1^{-/-}) では、糖尿病 wild type マウス (ICAM-1^{+/+}) に比較して、腎組織へのマクロファージの浸潤とアルブミン尿が抑制されている。(文献 12 より引用, 改変)

の進展にマクロファージが重要な役割を果たしていることが強く示唆されてきた。

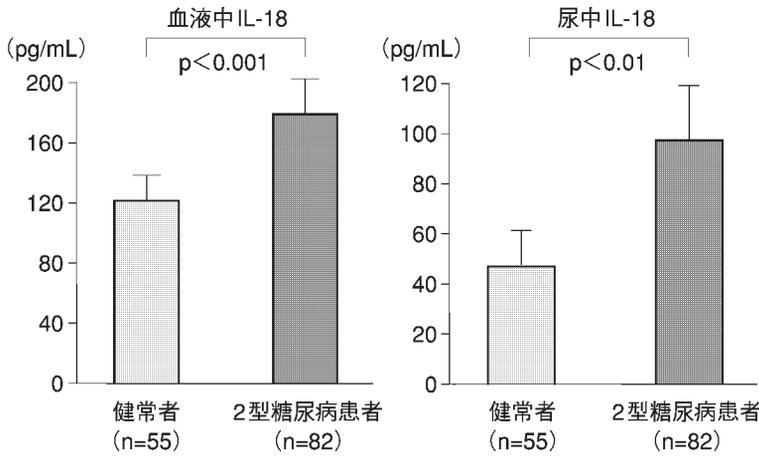
われわれは、腎症の成因におけるマクロファージの役割を明らかにするために、ICAM-1 ノックアウト (KO) マウスにストレプトゾトシンで糖尿病を誘発し、6 か月間観察して腎症の変化を検討した¹²⁾。その結果、対照として用いた wild type マウスでは、糖尿病誘発後 1 か月よりアルブミン尿の増加が認められ、3 か月、6 か月後にはさらに増加した。一方、ICAM-1 KO マウスでは 1 か月後のアルブミン尿は wild type マウスと同様に増加したが、その後のアルブミン尿の増加が抑制されていた (図 3)。腎組織では、wild type マウスでは糸球体と間質にマクロファージの浸潤を認めたが、ICAM-1 KO マウスではマクロファージの浸潤が著明に抑制されていた。また、組織学的には糸球体肥大、メサンギウム基質の増加、間質の線維化が抑制され、腎臓における TGF- β と IV 型コラーゲンの発現も低下していた。したがって、腎組織に浸潤したマクロファージは TGF- β などのサイトカインを介して IV 型コラーゲンをはじめとする細胞外基質の産生を亢進させると考えられる。興味深いことに、ICAM-1 KO マウスでも、糖尿病発症後 1 か月のアルブミン尿は wild type マウスと変化がない。この事実から、マクロファージは腎症の発症よりも進展に強く関与していることが示唆される。

これらの結果より、マクロファージを中心とする炎症は、腎症の進展の加速因子として重要な役割を果たしてい

ると考えられる。最近 Chow らは、db/db マウスを用いて、われわれと同様の成績を報告している¹³⁾。彼らの報告によれば、db/db マウスと ICAM-1 KO マウスを交配することにより ICAM-1 分子を欠損した db/db マウスを作製すると、ストレプトゾトシンによる糖尿病モデルの場合と同様に、糖尿病発症後のマクロファージの浸潤と腎障害が有意に抑制されることから、2 型糖尿病における腎症にも ICAM-1 を介する炎症が関与することが強く示唆される。

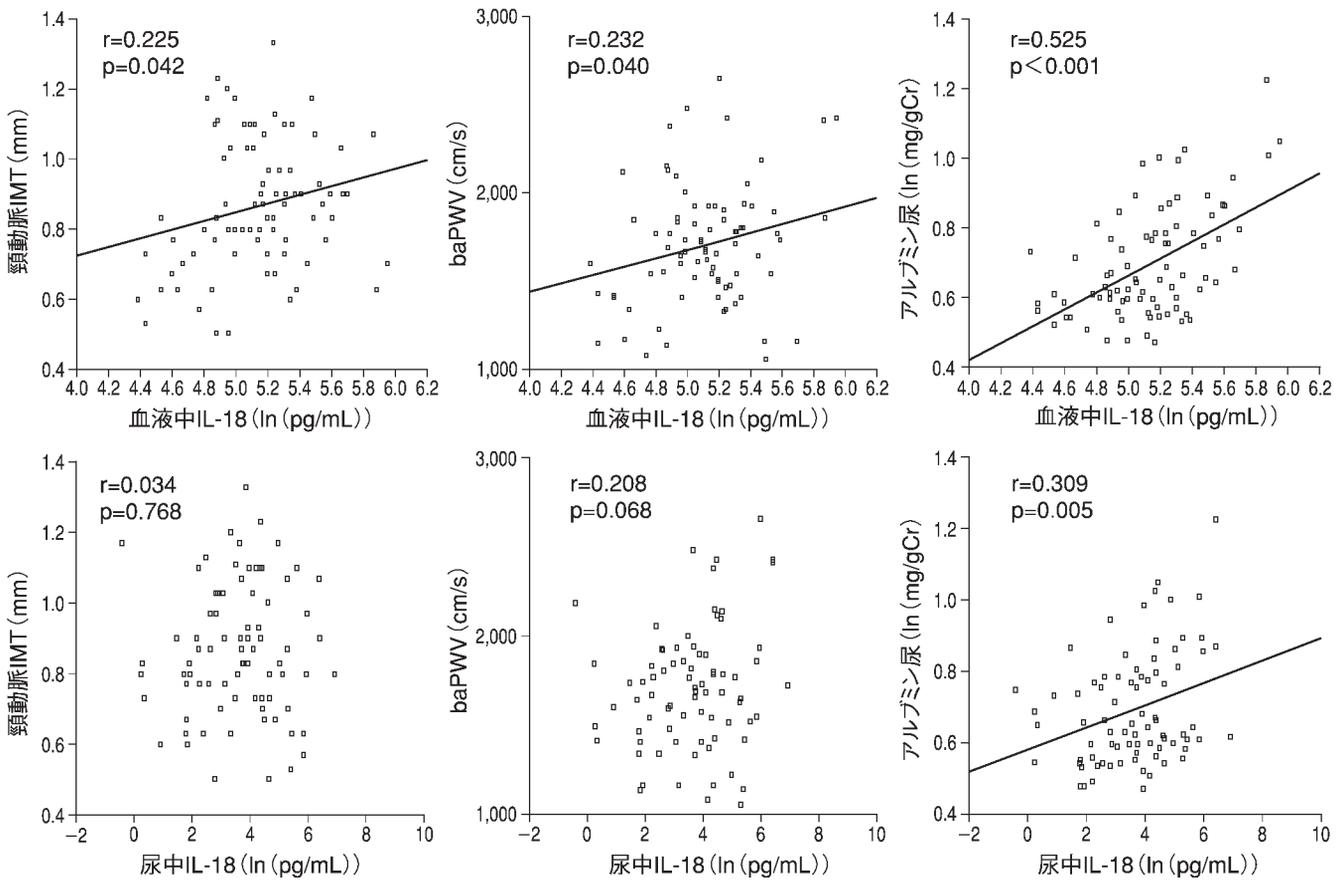
心腎連関における Microinflammation

近年、アルブミン尿と腎機能 (GFR) の低下が冠動脈疾患の重要な危険因子となることが明らかになり、心腎連関あるいは心腎相関と呼ばれて注目を集めている¹⁴⁾。すなわち、糖尿病性腎症を含めた慢性腎臓病 (CKD) の存在は、心血管イベントの大きなリスクとなる。心腎連関のメカニズムには複数の要因が関与していると思われるが、そのなかでも酸化ストレスや内皮細胞障害に基づく血管の炎症が重要な位置を占めていると考えられる。hsCRP の高値は冠動脈疾患のリスクファクターであることはよく知られているが、最近、活性化マクロファージから産生される IL-18 の血液中濃度が冠動脈イベントの予知因子となることが報告されている¹⁵⁾。われわれは 2 型糖尿病患者の血液中、尿中 IL-18 濃度を測定した。その結果、血液中 IL-18



◀図 4a 2型糖尿病患者では健常者に比較して血液中、尿中 IL-18 濃度が増加している。

▼図 4b 血液中 IL-18 濃度は IMT, baPWV, アルブミン尿と正の相関を示し、尿中 IL-18 濃度はアルブミン尿と正の相関を示す。
(文献 16 より引用)



濃度は動脈硬化の指標である IMT, baPWV のみならずアルブミン尿と正の相関を示し、尿中 IL-18 濃度はアルブミン尿と正の相関を示すことがわかった。さらに、血液中・尿中 IL-18 濃度はアルブミン尿の増加と相関することも明らかとなり¹⁶⁾、IL-18 は冠動脈疾患のみならず腎症の進展予知因子となることが示唆された(図 4)。最近の Araki らの研究においても、IL-18 が腎症発症の予知因子となることが示唆されている¹⁷⁾。

以上のことから、糖尿病における腎障害と動脈硬化の間

には、内皮細胞障害に伴う炎症という共通の病態が存在することを示唆している(図 5)。

治療ターゲットとしての Microinflammation

炎症は、動脈硬化のみならず腎症の進展にも重要な役割を果たしている。したがって、炎症を制御することによって腎症の進展を抑制できる可能性がある。

糖尿病性腎症の治療の中心的位置を占める ACE 阻害薬

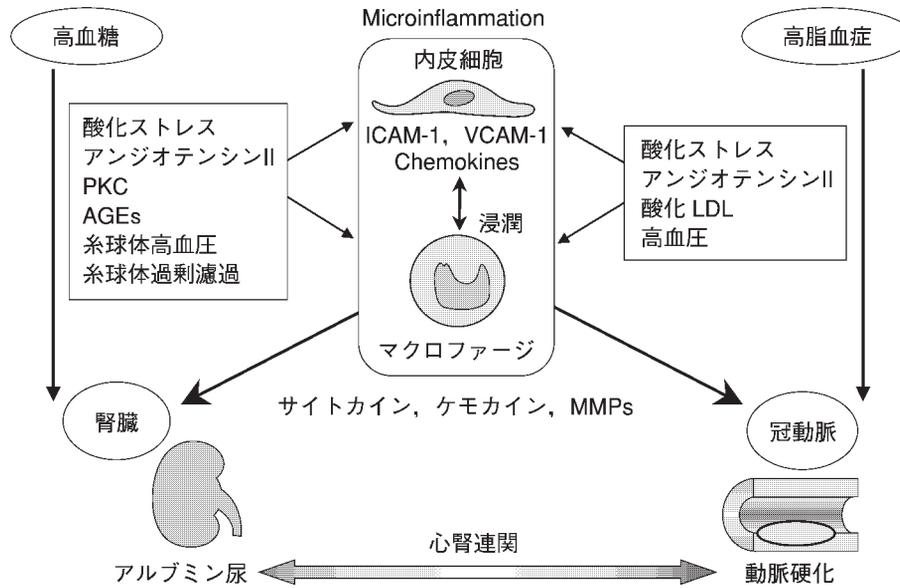


図 5 心腎連関と Microinflammation

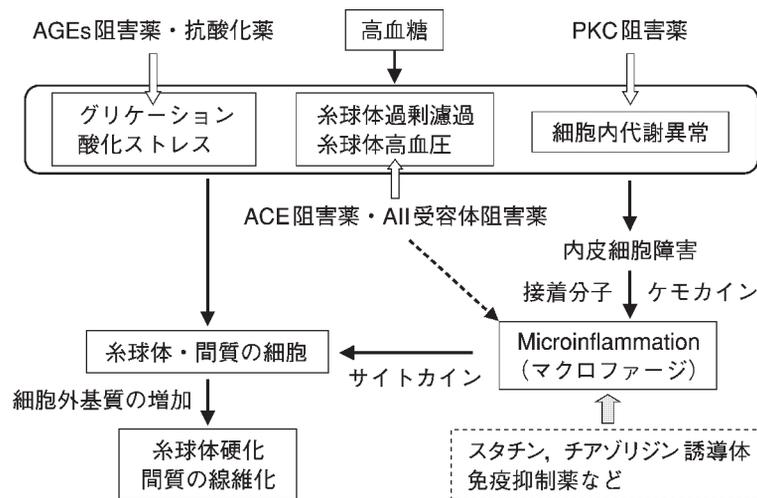


図 6 糖尿病性腎症の成因と治療ターゲット

やアンジオテンシン受容体拮抗薬は、降圧作用とは独立した抗炎症作用を示すことが知られている^{18,19)}。一方、高脂血症治療薬である HMG-CoA 還元酵素阻害薬(スタチン)とインスリン抵抗性改善薬であるチアゾリジン誘導体も、本来のコレステロール低下作用や血糖低下作用とは独立した抗炎症効果を持つことが注目されている。われわれは、糖尿病ラットにスタチンやチアゾリジン誘導体であるピオグリタゾンとを投与して腎症に対する効果を検討した^{20,21)}。その結果、スタチンとチアゾリジン誘導体は腎臓における NF- κ B の活性化、ICAM-1 の発現とマクロファージの浸潤を抑制することにより、腎症の進展を抑制した。Ota らも、高血圧を伴う糖尿病ラットを用いて同様の結果を報告

している²²⁾。一方、免疫抑制薬である MMF²³⁾、ミゾリピン²⁴⁾、メトトレキサート²⁵⁾ や抗炎症効果を持つマクロライド系抗生剤(エリスロマイシン)は、糖尿病ラットの腎臓における炎症を抑えることによって腎障害の進展を抑制する²⁵⁾。インスリン抵抗性改善薬であるピオグリタゾンも、抗炎症効果を介して糖尿病性腎症に有効性を示す。

最近の DNA マイクロアレイを用いた研究から、糖尿病性腎症の進展過程に関わる炎症関連分子として、オステオポンチンやスカベンジャーレセプター A などが明らかになっており、これらの分子をターゲットとした抗炎症治療も今後有望な治療戦略となるかもしれない^{26,27)}。

このように、血管における炎症を制御する治療は、腎症

をはじめとする糖尿病血管合併症に対する新しい治療戦略となることが期待される(図6)。

文 献

- Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999 ; 14 : 115-126.
- Furuta T, Saito T, Ootaka T, Soma J, Obara K, Abe K, Yoshinaga K. The role of macrophages in diabetic glomerulosclerosis. *Am J Kidney Dis* 1993 ; 21 : 480-485.
- Hirata K, Shikata K, Matsuda M, Akiyama K, Sugimoto H, Kushiro M, Makino H. Increased expression of selectins in kidneys of patients with diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1998 ; 41 : 185-192.
- 四方賢一, 榎野博史. 糖尿病性腎症の成因における内皮細胞障害. 糖尿病腎症の発症と進展. 内分泌・糖尿病科 2005 ; 20 : 209-213.
- Clausen P, Jacobsen P, Rossing K, Jensen JS, Parving HH, Feldt-Rasmussen B. Plasma concentrations of VCAM-1 and ICAM-1 are elevated in patients with Type 1 diabetes mellitus with microalbuminuria and overt nephropathy. *Diabet Med* 2000 ; 17 : 644-649.
- Clausen P, Jacobsen P, Rossing K, Jensen JS, Parving HH, Feldt-Rasmussen B, Guler S, Cakir B, Demirbas B. Plasma soluble intercellular adhesion molecule 1 levels are increased in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Horm Res* 2002 ; 58 : 67-70.
- Wada T, Furuichi K, Sakai N, Iwata Y, Yoshimoto K, Shimizu M, Takeda SI, Takasawa K, Yoshimura M, Kida H, Kobayashi KI, Mukaida N, Naito T, Matsushima K, Yokoyama H. Up-regulation of monocyte chemoattractant protein-1 in tubulointerstitial lesions of human diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2000 ; 58 : 1492-1499.
- Suzuki D, Miyazaki M, Naka R, Koji T, Yagame M, Jinde K, Endoh M, Nomoto Y, Sakai H. *In situ* hybridization of interleukin 6 in diabetic nephropathy. *Diabetes* 1995 ; 44 : 1233-1238.
- Sugimoto Y, Iba Y, Kayasuga R, Kirino Y, Nishiga M, Alejandra Hossen M, Okihara K. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are resistant against renal injury after induction of diabetes. *Diabetes* 1997 ; 46 : 2075-2081.
- Sassy-Prigent C, Heudes D, Mandet C, Belair MF, Michel O, Perdureau B, Bariety J, Bruneval P. Early glomerular macrophage recruitment in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 2000 ; 49 : 466-475.
- Utamura R, Fujihara CK, Mattar AL, Malheiros DM, Noronha IL, Zatz R, Utamura R, Fujihara CK, Mattar AL. Mycophenolate mofetil prevents the development of glomerular injury in experimental diabetes. *Kidney Int* 2003 ; 63 : 209-216.
- Okada S, Shikata K, Matsuda M, Ogawa D, Usui H, Kido Y, Nagase R, Wada J, Shikata Y, Makino H. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are resistant against renal injury after induction of diabetes. *Diabetes* 2003 ; 52 : 2586-2593.
- Chow FY, Nikolic-Paterson DJ, Ozols E, Atkins RC, Tesch GH. Intercellular adhesion molecule-1 deficiency is protective against nephropathy in type 2 diabetic db/db mice. *J Am Soc Nephrol* 2005 ; 16 : 1711-1722.
- Hillege HL, Fidler V, Diercks GF, van Gilst WH, de Zeeuw D, van Veldhuisen DJ, Gans RO, Janssen WM, Grobbee DE, de Jong PE ; Prevention of Renal and Vascular End Stage Disease(PREVEND)Study Group. Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation* 2002 ; 106 : 1777-1782.
- Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, Peetz D, Cambien F, Meyer J, Rupprecht HJ ; AtheroGene Investigators. Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina. *Circulation* 2002 ; 106 : 24-30.
- Nakamura A, Shikata K, Hiramatsu M, Nakatou T, Kitamura T, Wada J, Itoshima T, Makino H. Serum interleukin-18 levels are associated with nephropathy and atherosclerosis in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005 ; 28 : 2890-2895.
- Araki S, Haneda M, Koya D, Sugimoto T, Isshiki K, Chin-Kanasaki M, Uzu T, Kashiwagi A. Predictive impact of elevated serum level of IL-18 for early renal dysfunction in type 2 diabetes : an observational follow-up study. *Diabetologia* 2007 ; 50 : 867-873.
- Kato S, Luyckx VA, Ots M, Lee KW, Ziai F, Troy JL, Brenner BM, MacKenzie HS. Renin-angiotensin blockade lowers MCP-1 expression in diabetic rats. *Kidney Int* 1999 ; 56(3) : 1037-1048.
- Tone A, Shikata K, Sasaki M, Ohga S, Yozai K, Nishishita S, Usui H, Nagase R, Ogawa D, Okada S, Shikata Y, Wada J, Makino H. Erythromycin ameliorates renal injury via anti-inflammatory effects in experimental diabetic rats. *Diabetologia* 2005 ; 48 : 2402-2411.
- Usui H, Shikata K, Matsuda M, Okada S, Ogawa D, Yamashita T, Hida K, Satoh M, Wada J, Makino H. HMG-CoA reductase inhibitor ameliorates diabetic nephropathy by its pleiotropic effects in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2003 ; 18(2) : 000-000.
- Ohga S, Shikata K, Yozai K, Okada S, Ogawa D, Usui H, Wada J, Shikata Y, Makino H. Thiazolidinedione ameliorates renal injury in experimental diabetic rats through anti-inflammatory effects mediated by inhibition of NF- κ B activation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007 ; 292 : F1141-1150.
- Ota T, Takamura T, Ando H, Nohara E, Yamashita H, Kobayashi K. Preventive effect of cerivastatin on diabetic nephropathy through suppression of glomerular macrophage recruitment in a rat model. *Diabetologia* 2003 ; 46 :

- 843-851.
23. Kikuchi Y, Imakiire T, Yamada M, Saigusa T, Hyodo T, Hyodo N, Suzuki S, Miura S. Mizoribine reduces renal injury and macrophage infiltration in non-insulin-dependent diabetic rats. *Nephrol Dial Transplant* 2005 ; 20 : 1573-1581.
 24. Yozai K, Shikata K, Sasaki M, Tone A, Ohga S, Usui H, Okada S, Wada J, Nagase R, Ogawa D, Shikata Y, Makino H. Methotrexate prevents renal injury in experimental diabetic rats via anti-inflammatory actions. *J Am Soc Nephrol* 2005 ; 16 : 3326-3338.
 25. Tone A, Shikata K, Ogawa D, Sasaki S, Ryo Nagase, Sasaki M, Yozai K, Kataoka H, Okada S, Wada J, Shikata Y, Makino M. Changes of gene expression profiles in macrophages stimulated by angiotensin II induces MCP-2 through receptor. *Journal of the renin-angiotensin aldosterone system. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2007 ; 8 : 45-50.
 26. Susztak K, Bottinger E, Novetsky A, Liang D, Zhu Y, Ciccone E, Wu D, Dunn S, McCue P, Sharma K. Molecular profiling of diabetic mouse kidney reveals novel genes linked to glomerular disease. *Diabetes* 2004 ; 53 : 784-794.
 27. Usui HK, Shikata K, Sasaki M, Okada S, Matsuda M, Shikata Y, Ogawa D, Kido Y, Nagase R, Yozai K, Ohga S, Tone A, Wada J, Takeya M, Horiuchi S, Kodama T, Makino H. Macrophage scavenger receptor-a-deficient mice are resistant against diabetic nephropathy through amelioration of microinflammation. *Diabetes* 2007 ; 56 : 363-372.