

第 39 回腎臓セミナー・Nexus Japan プロシーディング

大島賞受賞講演

# Sirt1 と NMN を介する糖尿病性腎症の尿細管・糸球体連関の解析

Communication from proximal tubules to glomeruli through Sirt1 and NMN in diabetic nephropathy

長谷川一宏

Kazuhiro HASEGAWA

## Sirt1 と尿細管-ポドサイト連関

抗加齢遺伝子サーチュイン(Sirt1)(図1), すなわち NAD 依存性脱アセチル化酵素 Sirt1 の腎での機能解析を進めたところ, 腎臓では特に近位尿細管 Sirt1 が重要であり, まず培養近位尿細管細胞の *in vitro* における細胞保護作用を報告した<sup>1)</sup>. 続いて生体における意義を解明するため, 近位尿細管特異的 SIRT1 過剰発現マウス(transgenic : Tg)<sup>2)</sup>, 欠

損マウス(conditional knockout : cKO)を作製した。

さらに, 高血圧, 腎炎, 糖尿病などの病態の異なる腎障害をマウスに惹起し, Sirt1 発現変化が最も顕著であった糖尿病性腎症に着目した。Sirt1 は, 通常は近位尿細管と足細胞(ポドサイト, 糸球体の構成細胞)の双方に発現するが, 糖尿病では, まず近位尿細管 Sirt1 が低下し, その結果 Sirt1 がもう一つの別の酵素である iNamt(図2)と協調して産生する nicotinamide mononucleotide(NMN)の分泌が減少した。

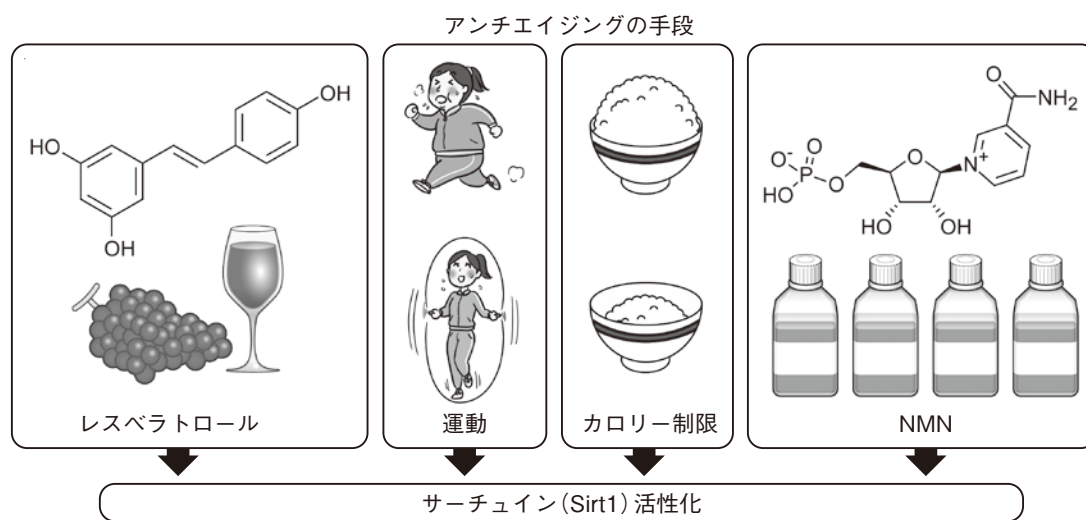


図1 Sirt1 の活性化の手段

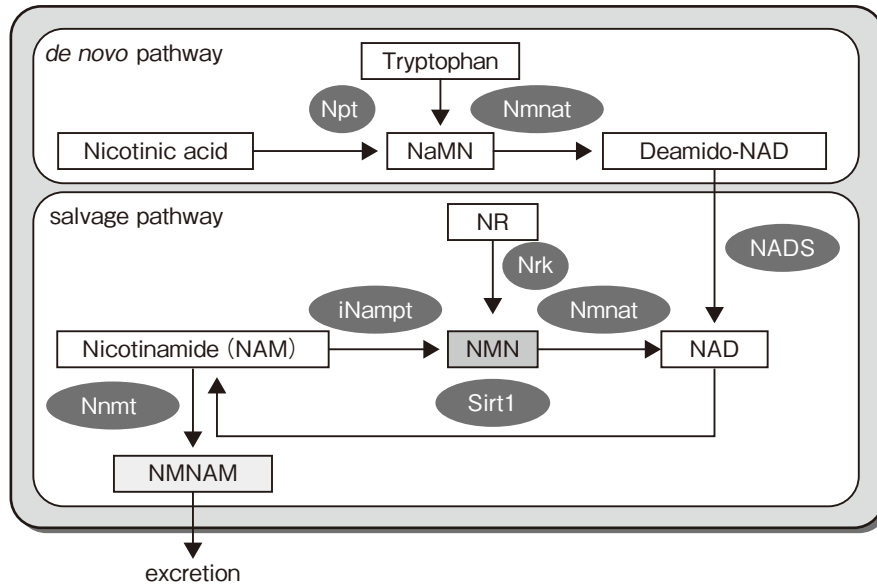


図2 Sirt1 と NAD の代謝

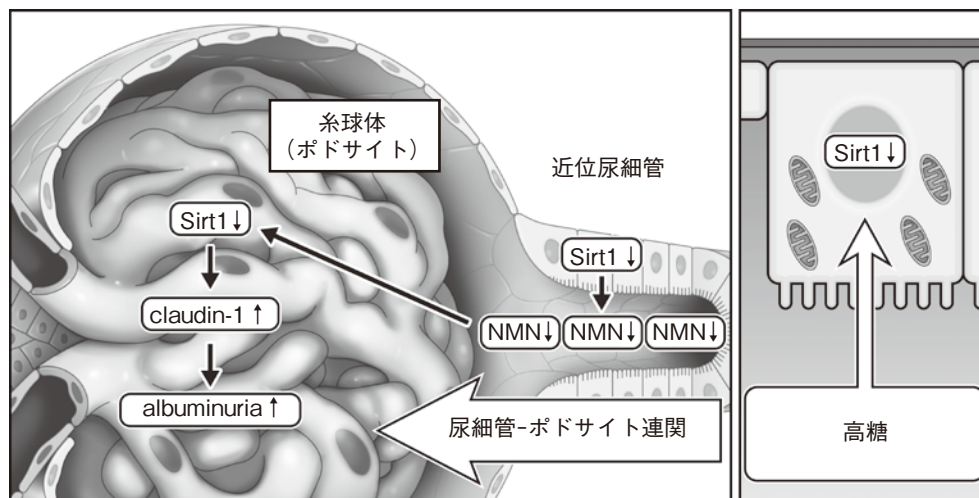


図3 糖尿病性腎症における Sirt1 低下

NMN の減少で足細胞 Sirt1 も低下し, epigenetic 制御で本来足細胞に発現していない tight junction の構成分子の claudin-1 の発現が上昇し, 足細胞の癒合を引き起こし, 蛋白尿が出現することを報告した<sup>3)</sup>。これらは Tg マウスで改善し cKO マウスで増悪を認めた。当研究で, 尿細管から糸球体への情報伝達経路(尿細管・糸球体連関と名づけた)を発見した。さらに“細胞間連関のメディエータ”として「炎症関連分子」がこれまで注目されてきたが, 細胞内 NAD 代謝の変化に基づく「細胞代謝産物」(当研究では NMN)をメディエータとして同定した(図2)。

さらに, epigenetic 制御による糸球体バリア機能の変化を

示し, 腎細胞へのストレス刺激の反復(当研究では高糖負荷)により, epigenetic に障害が固着する「病変の不可逆性」の重要性を解明した<sup>4)</sup>(図3)。

#### Sgt2/Sirt1/Nampt/NMN と糖尿病性腎症の先制医療の可能性

前述の通り, われわれは近位尿細管特異的 Sirt1 ノックアウト(KO)マウスにより, Sirt1 の糖尿病性腎症における意義を明らかにした。表に示す通り, カロリー制限や活性化剤による腎における Sirt1 の腎保護効果が示されたのち, わ

表 Sirt1 の機能解析 腎臓

全身の Sirt1 活性モデルにより腎保護作用をみたもの

部位	方法	活性化	病態への作用	論文
皮質	カロリー制限	全身	加齢腎の虚血↓	久米, 古家. JCI 2010
髄質	活性化剤	全身	UUO 間質線維化↓	Hao CM. JCI 2010

Sirt1 遺伝子改変マウスで腎構成細胞別の作用をみたもの

組織	表現型	論文
ポドサイト KO	Sirt1KO が STAT3 活性化で, 糖尿病性腎症を増悪	Liu R. Diabetes 2014
ポドサイト KO	Sirt1KO がアクチン骨格異常で, NTS 腎障害を増悪	本西, 稲城, 南学. JASN 2015
血管内皮 KO	Sirt1KO が MMP-14 上昇で, 糸球体硬化が増悪	Vasko R. JASN 2014
近位尿細管 KO, Tg	Sirt1KO が NMN 低下で, 糖尿病性腎症を増悪	長谷川, 脇野, 伊藤裕. Nat Med 2013
集合管 KO	Sirt1KO が Smad4 活性化で, 腎線維化を増悪	Simic P. Cell Reports 2013
近位尿細管 Tg	Sirt1 高発現による抗酸化ストレスで Cisplatin による AKI を抑制	長谷川, 脇野, 伊藤裕. JBC 2010

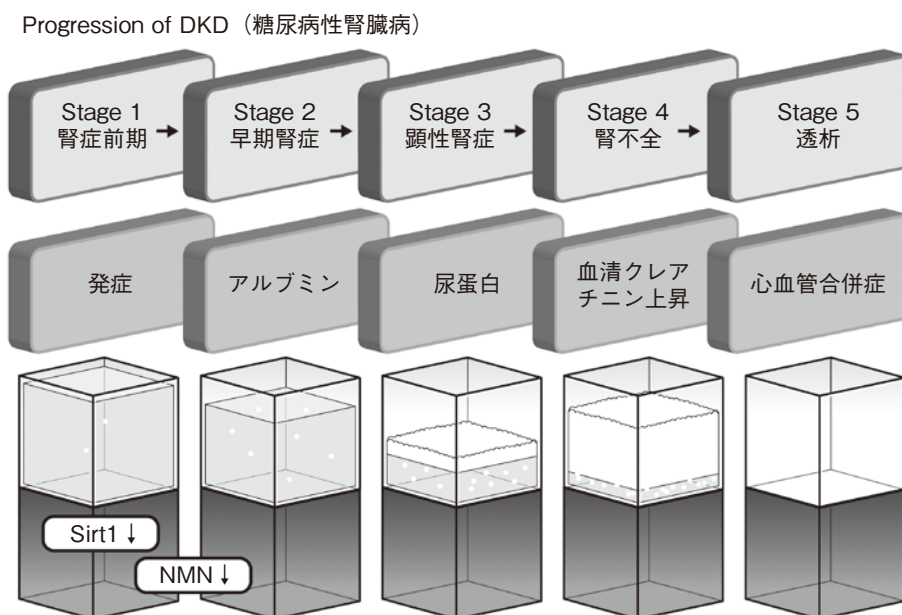


図4 Sirt1 低下の診断マーカーとしての可能性

Sirt1/NMN/Claudin-1 may raise the intriguing possibility of performing preventative medicine.

れわれの近位尿細管の腎構成細胞種別の Sirt1 の機能解析の報告に至ったのち、腎臓の近位尿細管以外の構成細胞における生体意義も続々と明らかになっている。

微量アルブミン尿については、糖尿病性腎症の早期マーカーとしての重要性が広く知られる一方で、糖尿病性腎症の実際の臨床経過においては、微量アルブミン尿の量と病勢が必ずしも相関しない例、微量アルブミン尿→蛋白尿→血清BUN,クレアチニン上昇を経ない例(アルブミン尿や蛋白尿が乏しいのに、腎不全が進行している、また、その逆にアルブミン尿や蛋白尿が多量なのに、腎機能はずっと正

常など)、高血圧性腎硬化症でも微量アルブミン尿は呈するので、糖尿病性腎症に特異的ではないと考えられる点、などその限界も経験する。われわれが着目している Sirt1 低下、NMN 低下が図4に示した通り、糖尿病性腎症の早期マーカーとしてその意義を確立することができれば、今後の糖尿病性腎症の先制医療の実現の一助になるかもしれない。

現在、①そもそも尿細管で Sirt1 が早期より低下する分子機序、②Nampt の腎における機能解析、③NMN 投与の腎保護効果、の検討を行っている。①では、Sgt2 による Sirt1

の発現制御の重要性(ASN2017年11月4日口頭発表 # SA-OR119), ②では Nampt の近位尿細管 cKO が広範な腎線維化と基底膜肥厚をきたすことを見出しており(ASN2017年11月2日口頭発表 # TH-OR116), これらの現在遂行中の研究により, Sgl2/Sirt1/Nampt/NMN による糖尿病性腎症の先制医療の可能性について, 今後も検討していきたい。

### 謝 辞

当研究を遂行するにあたり, 研究の指導者, 脇野修准教授, 伊藤裕教授に深謝いたします。ヒト腎生検については, 当科の徳山博文講師と東京歯科大学市川総合病院 坂巻裕介先生, 林 晃一教授に指導いただき, 培養ポドサイトのご供与を現千葉大学腎臓内科の浅沼克彦教授にいただきました。なお, 今後遂行する研究については, 京都大学 横井秀基講師, 高知大学 岩崎泰正教授にマウスや研究試料のご供与をいただき進めることができおり, この場を借りて感謝申し上げます。大島賞の推薦人になってくださいました門川俊明教授, 大島賞と Nexus Japan にて座長ならびに賞授与をたまわりました柏原直樹教授, 誠に有難うございました。なお, 各学会・研究会, 特に, APCN2014 で YIA を授与いただいた順天堂大学 富野康日己名誉教授, 鈴木祐介教授, ポドサイト研究会にて河内 裕教授, 分子腎臓フォーラムでは西山 成教授や各運営委員の先生方, Japan Kidney Conference では南学正臣教授, 柳田素子教授 方に発表や討議の機会を私に与えて下さり, 感謝申し上げます。最後に僭越ですが, ここまで育てていただいた日本腎臓学会には, 若手の研究者の育成という形で今後御恩返しをさせていただけるよう努力することを誓い

ます。若手の先生へ, 研究は一見 in house の世界に見えますが, 私のように自学のみならず他学の先生方が手を差し伸べてくださいます。次は, 私自身が若手の皆様に手を差し伸ばせるような研究者になれるよう精進致しますので, 学会の先生方引き続きのご指導のほど, 何卒宜しくお願いいたします。この度は誠に有難うございました。

利益相反自己申告: 申告すべきものなし

### 文 献

1. Hasegawa K, Wakino S, Kanda T, Tokuyama H, Hayashi K, Itoh H. Sirt1 protects against oxidative stress-induced renal tubular cell apoptosis by the bidirectional regulation of catalase expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2008 ; 372(1) : 51-56.
2. Hasegawa K, Wakino S, Kanda T, Tokuyama H, Hayashi K, Itoh H. Kidney-specific overexpression of Sirt1 protects against acute kidney injury by retaining peroxisome function. *J Biol Chem* 2010 ; 285 : 13045-13056.
3. Hasegawa K, Wakino S, Simic P, Sakamaki Y, Hayashi K, Guarante L, Itoh H. Renal tubular Sirt1 attenuates diabetic albuminuria by epigenetically suppressing Claudin-1 overexpression in podocytes. *Nat Med* 2013 ; 19(11) : 1496-1504.
4. Hasegawa K, Wakino S, Sakamaki Y, Kanda T, Tokuyama H, Hayashi K, Itoh H. Communication from tubular epithelial cells to podocytes through Sirt1 and nicotinic acid metabolism. *Curr Hypertens Rev* 2016 ; 12(2) : 95-104. Review.