

特集：最新の腎臓領域の基礎研究

# 生活習慣病に伴う慢性腎臓病

Lifestyle-related chronic kidney disease

高 島 義 嗣

Yoshitsugu TAKABATAKE

## はじめに

周知のように生活習慣病に伴う慢性腎臓病(CKD)の患者数は増加の一途をたどっている。特に糖尿病性腎症は1998年以降、透析導入患者の原疾患の第1位(2015年43.7%)であり、その減少は医学的・社会的に喫緊の課題である。本稿では、生活習慣病に伴う慢性腎臓病のなかでも特に糖尿病性腎症の基礎研究の進展について解説する。この分野だけでも膨大な研究の蓄積があるが、特に進展があったいくつかのテーマごとに説明する。誌面の都合と筆者の能力・守備範囲の限界から、記述に偏りがあることをご容赦願いたい。

## SGLT2 阻害薬：臨床研究から基礎研究へ

EMPA-REG 試験および CANVAS プログラムにおいて、SGLT2 阻害薬投与が心血管関連死を有意に抑制し、アルブミン尿および eGFR 低下も抑制したことが報告された<sup>1~3)</sup>。腎機能が低下した患者での効果は今後の研究の結果を待たねばならないが、これらの結果は DPP-4 阻害薬が同様の効果を発揮できなかったのと対照的である。SGLT2 阻害薬は糖の排泄促進により、全身の糖毒性の抑制、インスリン感受性の改善をもたらすが、血糖降下作用が HbA1C にして 0.3 ~ 1.0% 程度の低下であることを考慮すると、糖毒性の軽減とは別のメカニズムで腎保護作用を発揮していると考えるのが自然だろう。血糖降下作用に伴って認められる、軽度の血圧低下、体重減少、ナトリウム排泄促進、糸球体過剰濾過の是正が複合的に効果を発揮している可能性があるが、これら以外にも多彩な作用が知られている。

## 1. 腎臓での酸素消費量の低減<sup>4)</sup>

糖尿病状態での尿細管での過剰なナトリウムおよび糖再吸収は  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase 活性の上昇と酸素消費の増加をもたらす。SGLT2 阻害薬は一過性に GFR を下げ、尿細管のナトリウム負荷を低減すること、ナトリウムの再吸収を減らすことで酸素消費を低下させる。一方で、髄質の酸素分圧の低下を示唆する報告もある。これは、より遠位でのナトリウム再吸収亢進による酸素消費の増加で説明できる。マウス虚血再灌流モデルで、負荷24時間前にダパグリフロジンを投与すると、腎傷害が軽減するとともに、HIF-1 $\alpha$  およびその下流にあるヘムオキシゲナーゼ1(HO-1)の発現上昇を伴っていた(当然、血糖降下作用とは無関係な効果ということになる)<sup>5)</sup>。SGLT2 ノックアウトマウスでも腎臓での HO-1 の発現が上昇していると報告されている。SGLT2 阻害薬により腎内の酸素分圧がどのように変化するのか、病態にどのように影響するかは今後の研究を待たねばならないが、HIF stabilizer と共通した作用があること、SGLT2 阻害薬によるエリスロポエチン産生増加の機序を考えるうえでも興味深い。

## 2. 腎における糖新生の抑制<sup>6)</sup>

糖尿病状態では近位尿細管における糖新生が増加していることが知られている。SGLT2 阻害薬投与により、その律速酵素であるホスホエノールピルビン酸カルボキシルキナーゼ(PEPCK)の発現が低下していることから、糖新生が抑制されている可能性がある。これは血糖降下による間接的な効果である可能性が否定できないが、近位尿細管細胞に何らかの代謝変化が生じているのかもしれない。さらに、糖新生は代謝性アシドーシスに対する適応反応としてのアンモニウムイオン産生とリンクしているので、ケトアシドーシスへの負の影響もあるのかもしれない。

### 3. ケトン体産生<sup>4)</sup>

SGLT2阻害薬服用下では、各代謝臓器において解糖系から脂肪酸酸化へシフトが生じるとされる。この結果、産生が上昇するアセチル CoA から TCA サイクルに入るかケトン体になるかの2通りの経路があるが、SGLT2 阻害薬によりグルカゴン分泌が刺激される(膵 $\alpha$ 細胞には SGLT2 受容体がある)ことから、ケトン体産生に向かいやすいとされる。実際、4週間エンパグリフロジン服用すると、空腹時のケトン体濃度が軽度上昇し、逆に乳酸濃度は減少する。ケトン体は消費酸素当たりのアデノシン3リン酸(ATP)産生効率が高く、濃度依存性に優先的に使用される。脂肪酸酸化の亢進は、有害な代謝産物(ジアシルグリセロールなど)の減少をもたらす利点もある。さらにはケトン体自体に腎血漿流量(RPF)およびGFR上昇効果も報告されている<sup>7)</sup>。いずれにせよ、SGLT2 阻害薬の効果は全身あるいは腎臓の代謝に影響を与えた結果と考えられ、メタボリックスイッチの機序解明は今後の糖尿病性腎症治療のヒントになるはずである。

### ミトコンドリアの分裂と融合

ミトコンドリアは細長く枝分かれした構造を持ち、活発に分裂(fission)と融合(fusion)を繰り返している。分裂と融合はいくつかのGTPase群分子によって制御される[分裂: Drp1, Fis1; 融合: Mitofusin 1(Mfn1), Mfn2, OPA1]。糖尿病性腎症の尿細管ではミトコンドリアの断片化が認められる<sup>8)</sup>。ミトコンドリアの断片化は一般的にその機能低下状態において認めやすく、膜電位の低下、ATP産生低下、アポトーシスと関連する。Wangらはポドサイト特異的にROCK1をノックアウトあるいは機能亢進させたマウスを用いて、高血糖状態ではポドサイトに発現するROCK1がDrp1をミトコンドリアにリクルートし、ミトコンドリアの断片化をもたらすことを示した<sup>9)</sup>。またROCK1をノックアウトすると、ミトコンドリアの断片化が抑制され、糖尿病性腎症の病態が改善することを示した。Tangらは融合にかかわる因子Mfn2をアデノウイルスで糖尿病ラットに強制発現することで病態の改善を報告している<sup>10)</sup>。しかし融合=善、分裂=悪という図式は単純に過ぎると思われる。例えば、久留米大学の石原らは、心筋特異的Drp1ノックアウトマウスは心機能低下を呈する一方、肝特異的Drp1ノックアウトマウスは高脂肪食下でインスリン感受性が改善することを示している<sup>11,12)</sup>。Drp1によるミトコンドリアの断片化により、ミトコンドリアDNA(mtDNA)がミトコ

ンドリア全体に配置されることで、呼吸鎖複合体の機能維持がもたらされていると推測される。また、分裂や融合にかかわる因子のなかにはそれ以外の機能を持つものがある。例えば、Mfn2はミトコンドリアと小胞体の接触構造(MAM: 脂質輸送やカルシウム応答などの重要な細胞機能を担う)の形成に関与することが知られている。糖尿病状態におけるミトコンドリア断片化の意義(原因か結果か)に関しては更なる検証が必要と思われる。

### 酸化ストレスをめぐるコントロールバシー

糖尿病性腎症ではミトコンドリアの機能異常、酸化ストレスの亢進を認めることが古くから知られている。最近の研究でもdb/dbマウスにroGFP(GFPに2カ所のシステイン置換を行って酸化還元応答性を付与した変異蛋白質)を発現させ、二光子顕微鏡で観察することで、ミトコンドリア由来活性酸素種(ROS)の産生が増加することが報告されている<sup>13)</sup>。高血糖によるミトコンドリアの過活動に由来する過剰なROSはmtDNAを傷害し、ミトコンドリア蛋白の産生を抑制することで、ミトコンドリア機能障害に至る。ミトコンドリアの機能異常はATP産生低下、ひいては細胞死につながる。この古典的な図式に対し、最近別の説が提唱されている。Sharmaらはストレプトゾトシン(STZ)投与あるいはAkitaマウス(1型糖尿病モデル)の腎臓で、ミトコンドリア由来の活性酸素の産生がむしろ減少していることをさまざまな方法で示している(逆に、ミトコンドリア以外からのROSの産生は増加している)<sup>14)</sup>。糖尿病性腎症ではAMP活性化プロテインキナーゼ(AMPK)の活性低下を認め、その活性化薬5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- $\beta$ -D-ribofuranoside(AICAR)を投与すると、PGC-1 $\alpha$ の産生亢進により、低下しているミトコンドリア生合成が亢進し、ROSの産生が増加するが、腎臓全体のROSは減少し、糖尿病性腎症の病態はむしろ改善する。AICARの腎保護効果は高脂肪食負荷マウスでも認められる<sup>15)</sup>。ミトコンドリア由来のROSが病態を悪化させない傍証として、SOD2(ミトコンドリアにおけるROS消去系)のハプロ欠損では腎臓のROSは増加しているが、糖尿病状態でも病態は悪化しないことが示されている。

ミトコンドリア由来ROSの多寡については議論がある一方で、NADPHオキシダーゼ由来のROSは増加しており、病態を負に制御していることは広く受け入れられている。NOXの種々のアイソフォームのうちでも、NOX2および4は腎構成細胞に高発現している<sup>16)</sup>。ApoEノックアウトマ

ウスに STZ を投与した糖尿病性腎症モデルで、さらに NOX4 をノックアウトしたり、NOX1/4 の阻害薬 (GKT137831) を投与すると病態が改善することが示されている<sup>17)</sup>。NOX は腎の糖新生 (糖尿病状態で亢進する) にも関与し、アポシニン (NOX 阻害薬) をアロキサン投与ウサギ (1 型糖尿病モデル) に投与すると、腎臓の糖新生が抑制されることが示されている<sup>18)</sup>。

### 糖尿病性腎症における糖・脂肪酸代謝活性

実臨床では、血糖値と腎症の発症が必ずしも相関しないことを実感する。ジョスリン糖尿病センターの King らはジョスリンメダリスト研究 (50 年以上にわたり 1,000 例以上の糖尿病患者を横断的に追跡している研究) において、長期の 1 型糖尿病罹患歴がありながら腎症がない患者 (メダリスト) では、腎臓への糖毒性が何らかの内因性の要因で回避されていると考え、そのような患者の糸球体で高発現している因子を探索した<sup>19)</sup>。予想通り、糖尿病性腎症の発症は血糖コントロールに無関係であった。解析の結果、メダリストでは解糖系経路およびミトコンドリア経路の酵素遺伝子の発現が増加しており、特にピルビン酸キナーゼ M2 (PKM2) の発現および活性が亢進していた (免疫染色ではポドサイトに同遺伝子の発現が増加)。高血糖下では、スルフェニル化によって PKM2 の四量体形成が阻害され、活性が低下することがわかった。ポドサイト特異的に PKM2 をノックアウトした糖尿病マウスでは、アルブミン尿や糸球体病変が悪化した。逆に、培養ポドサイトで TEPP-46 によって PKM2 を薬理的に活性化すると、解糖系のフラックスが亢進することで、高血糖が誘導するグルコース代謝産物量の増加が抑制され、ミトコンドリア機能異常が回復した。さらに糖尿病モデルマウスを用いた介入研究では、STZ 投与により糸球体の PKM2 活性は半減するが、TEPP-46 の投与によって代謝異常、ミトコンドリア機能不全、腎病変が改善した。したがって PKM2 活性化は、グルコース代謝フラックスの亢進、有毒なグルコース代謝産物産生阻害とミトコンドリア生合成の誘導によるミトコンドリア機能回復によって、糖尿病性腎症の発症・進展を防ぐ可能性がある結論された。上記の経路とともにポリオール代謝経路 (アルドースレダクターゼ、ソルビトールデヒドロゲナーゼ) およびメチルグリオキサール (MG) 分解経路の酵素量もメダリストで増加していた。後者については酵素活性の増加は MG およびそれから派生する終末糖化産物 (AGE) の減少につながると想像されるが、前者については

同経路が病態を悪化させると考えられてきたことから、予想外の結果である。メダリストの PKM2 や、その他の酵素活性の上昇が何に規定されているかは、糖尿病性腎症の疾患感受性遺伝子という重要なテーマとの関連から興味深い。また Kang らは、ヒトの腎生検検体 (種々の腎疾患を含む) の全ゲノム・トランスクリプトーム解析を行い、脂肪酸酸化活性の低下が腎線維化の重要な原因であることを報告しており、前述の報告と共通したメカニズムをうかがわせる<sup>20)</sup>。

Sharma のグループは最近、db/db マウスの腎皮質および単離ミトコンドリアを用いたトランスクリプトーム・メタボローム (フラックス) 解析およびヒトの腎・尿検体のメタボローム解析の結果を報告している<sup>21)</sup>。その結果、糖尿病性腎症では、1) 解糖系、TCA サイクル、脂肪酸酸化の主な代謝産物が増加し、解糖系酵素の発現が上昇していること (上述の PKM2 も増加する)、2) フラックス解析から 3 つの経路が亢進していること、3) 各経路の酵素活性の変化は酵素自身やその転写因子のアセチル化により調節されていること、4) TCA サイクル、脂肪酸酸化の亢進にもかかわらず電子伝達系は抑制され、ATP 産生も低下すること (アンカップリング)、が判明した。また、ヒト (2 型糖尿病) の腎臓のメタボローム解析でも、おおむねマウスと同様、腎症で各経路の代謝産物は増加していることが確認された。さらに、非糖尿病および腎症を発症していない糖尿病患者のコホートを 5 年間追跡した研究では、ベースラインの尿では解糖系代謝産物は糖尿病群で増加していたが、後の Progressor (eGFR < 65 mL/分/1.73 m<sup>2</sup> あるいは血清クレアチニン 1.2 mg/dL で定義) 群と Resistor 群で有意差がなかった。しかし TCA サイクルの代謝産物のベースライン尿中濃度は Progressor 群で高く、糖尿性腎症の進行を予測すると考えられた。

前述の 2 つの重要な論文の結果は、共通した発見も多いが、細かい部分では齟齬があり、更なる研究により、両者の結果を統一的に説明できるような理論が必要になるだろう (前者は主にヒトのサンプル解析なので、酵素の発現量および代謝産物量で評価しており、フラックス解析ができていない。後者は各経路の亢進はフラックス解析で厳密に示されているが、それが原因か結果かが判断しにくい。また、ヒトサンプルの解析ではフラックス解析ができない)。

### ノンコーディング RNA・マイクロ RNA

細胞内には蛋白質へ翻訳されない RNA (ノンコーディン



グ RNA : ncRNA) が存在している。ncRNA のなかでも microRNA (miRNA ; 約 21 塩基) は、内在性の RNA サイレンシングを行うことで遺伝子の発現制御ネットワークを調節し、生命現象および疾患の進行に重要な役割を果たしている。miRNA は Argonaute 2 (Ago2) 蛋白質に取り込まれ、RNA 誘導サイレンシング複合体 (RNA-induced silencing complex : RISC) を形成する。miRNA は部分的に相補的な配列を有する標的 mRNA と結合し不安定化させることで、その標的 mRNA の蛋白質への出力を抑制する。miRNA による標的 mRNA の認識は配列特異的であるが、シード配列 (通常 3' 側の非翻訳領域にある) が短いこともあり (2~8 塩基)、miRNA と mRNA の対応は「多対多」であり、1 種類の miRNA は複数の mRNA を標的とし、逆に 1 種類の mRNA は複数の miRNA によって制御されることになる。糖尿病性腎症 (動物モデルやヒト) で発現が上昇あるいは低下している miRNA が複数同定されており、病態を修飾している<sup>22)</sup>。腎疾患における miRNA の重要性は、それを強制発現あるいは阻害することが治療につながる可能性があることとバイオマーカーとして使える点にある。ここでは ncRNA に関連した最近の研究を紹介する。

Kato らは、1 型糖尿病モデルマウス (STZ) の腎臓や、TGF- $\beta$  あるいはブドウ糖負荷培養メサンギウム細胞で、40 もの miRNA が増加していることを見出した<sup>23)</sup>。これらの miRNA はゲノム上で 1 カ所に集簇し (メガクラスター)、1 つの long ncRNA (lncMGC) から派生していた。lncMGC の発現は ER ストレス制御転写因子 CHOP で制御され、CHOP ノックアウトマウスではこれらの lncMGC が減少して病態が改善した。lncMGC を標的にしたオリゴヌクレオチド (GapmeRs : DNA-RNA ヘテロダイマーを作る) は miRNA クラスターの発現を阻害し、糖尿病モデルマウスの病態を改善させた。これらの miRNA の標的分子は TGF- $\beta$  シグナル、線維化関連遺伝子、ER ストレス関連因子など、これまで糖尿病性腎症の病態にかかわるとされてきた分子群であった。

Danesh らのグループは、miR-93 が血管内皮増殖因子 (VEGF) を標的にしており、糖尿病性腎症モデル (db/db マウス) の糸球体で発現が低下することで VEGF 量が増加することを報告していた。その後の研究で miR-93 を db/db マウスでポドサイト特異的に強制発現、あるいは “miR-93 mimics” を投与すると、糖尿病性腎症の病態が軽減することを示した<sup>24)</sup>。彼らは miR-93 の標的を探索する過程で、miR-93 が高血糖によって変化する遺伝子群 [フィブロネクチン、connective tissue growth factor (CTGF)、ROCK1 など] のクロマチン構造変化を元に戻すこと、このクロマチン構

造の変化は、miR-93 が MSK2 という分子を標的にすることで生じていることを突き止めた。MSK2 はセリンスレオニンキナーゼファミリーメンバーであり、ヒストン H3S10 のリン酸化を介して遺伝子発現を調節することで一連のストレス応答を担い、糖尿病性腎症の病態形成に寄与していると思われた。

Danesh のグループの Long らは lncRNA の一つ taurine-upregulated gene 1 (Tug1) が PGC-1 $\alpha$  を制御していることを見出した<sup>25)</sup>。2 型糖尿病モデルマウスでは Tug1 の発現が抑制されているが、ポドサイト特異的に Tug1 を強制発現した db/db マウスでは糖尿病性腎症の病態が改善し、抑制されていた PGC-1 $\alpha$  の発現がレスキューされた。Tug1 は PGC-1 $\alpha$  と結合することで PGC-1 $\alpha$  のプロモーター領域に結合し、その発現を促進することでミトコンドリアの機能改善をもたらすことが判明した。

## オートファジー

オートファジーは細胞内部の蛋白質や小器官をリソソームに運び込んで分解するプロセスであり、飢餓や細胞ストレスに対する適応反応である。オートファジーは各種腎疾患で亢進し、保護的な役割を担う<sup>26)</sup>。糖尿病モデルマウスにおいてもポドサイト<sup>27)</sup>および近位尿細管<sup>28)</sup>のオートファジー不全状態では病態の悪化を認める。オートファジーの最も基本的な役割が細胞内の栄養の枯渇に対する防衛反応 (飢餓適応) であること、糖尿病性腎症では栄養感知シグナルの異常が認められることから、糖尿病性腎症ではオートファジー活性が攪乱されることが推測される。特に糖尿病で認められる mechanistic target of rapamycin (mTOR) 経路の亢進、AMPK および Sirt1 の発現・活性低下は、オートファジーを負に制御するものと推測される (ただし、mTOR 経路により抑制されるのはカノニカルなオートファジーで、ストレスによるオートファジーには mTOR 非依存性のものも知られている)。実際 Tagawa らは、ヒト (2 型糖尿病) および OLETF ラット (2 型糖尿病) において、尿蛋白量に応じたオートファジー活性の低下 (オートファジー基質 p62 の分解低下による蓄積) とリソソームの拡張 (OLETF ラット) を報告している<sup>29)</sup>。また Gödel らは、STZ 投与による 1 型糖尿病マウスのポドサイトで mTOR 経路が亢進しており、mTORC1 経路をポドサイト特異的に抑制すると、尿蛋白量が減少することを報告している<sup>30)</sup>。ただし、薬剤による mTOR 活性の抑制 (ラパマイシンやそのアナログ) は病態を悪化させるとの報告も散見され、前述の知見と必ずしも合

致しない<sup>31)</sup>。Yamaharaらおよび Yamamotoらは、高脂肪負荷により近位尿管オートファジーが抑制され、尿管傷害につながることを報告している<sup>32,33)</sup>。Yamaharaらは mTOR の活性化、Yamamotoらはオートファジー基質の質的・量的変化に伴うリソソーム過負荷をオートファジー活性低下(あるいは停滞)の原因としている。さらに Yamamotoらはエイコサペンタエン酸(EPA)を高脂肪食負荷マウスに投与すると、オートファジー活性が回復し、尿管の脂肪毒性が軽減することを報告している。

AGEは糖尿病性腎症の進行に寄与することが知られている。AGEは血中あるいは糸球体濾過を介して近位尿管細胞に取り込まれ、リソソームで分解される。Takahashiらは尿管オートファジーとリソソームを介したAGE分解の関係を探求し、STZ負荷尿管細胞特異的オートファジー不全マウスの近位尿管ではAGEがより蓄積していることを見出した<sup>28)</sup>。そのメカニズムとして、AGE存在下では、その処理のため transcription factor EB (TFEB) の活性化を介してリソソームの生合成が促進されるが、オートファジー不全培養尿管細胞ではその適応反応が阻害されていることが判明した。尿酸結晶により傷害されたリソソームの分解にはオートファジーがかかわっていることが知られているが(リソファジー)<sup>34)</sup>、本モデルではリソソームの障害は軽度で、リソファジーとは別の機序でオートファジーがリソソームの産生・機能亢進にかかわっているものと考えられた。

糖尿病性腎症とミトファジー(傷害されたミトコンドリアを選択的に分解するオートファジー)の関連についてもいくつかの報告がある。前述のように糖尿病性腎症ではミトコンドリアが傷害されるので、ミトファジーがその修復に関与すると予想される。Liらは1型糖尿病モデルマウス(STZ)ではポドサイトにおいて PINK1/Parkin 依存性のミトファジー(家族性パーキンソン病において障害されていることが知られている)が抑制されており、ミトコンドリアの機能異常をきたすが、forkhead-box class O1 (FOXO1)を活性化するとミトファジーが回復し、糖尿病性腎症の病態が改善することを報告している<sup>35)</sup>。尿管においても、糖尿病で活性が上昇する尿管特異的蛋白質 myo-イノシトールオキシゲナーゼが亢進されるべきミトファジーを抑制し、病態悪化に寄与していることが示されている<sup>36)</sup>。

## おわりに

生活習慣病に起因するCKD患者(あるいは動物モデル)のある時点での病態には、糖尿病や脂質負荷による直接の影響、それに対する適応反応、腎傷害に伴う共通の変化などさまざまな要素が混在しているはずである。ヒトの場合はこれらに加え、疾患感受性の要素が加わる。本稿でもその一端を紹介したように、近年の研究の進展(遺伝子改変マウス、イメージング技術、オミックス解析など)は、これら混在していた変化のなかから、原因と結果をより分け、従来の常識を覆すような知見をもたらしている。また、SGLT2阻害薬の臨床研究における予想外の結果は、同薬で腎臓あるいは他臓器にどのような変化が生じているかを検証する必要性を認識させている(多くの腎臓内科医はSGLT2阻害薬を軽視していたのではないだろうか?)。腎臓における代謝経路に関する知見の多くは数十年前に得られたもので、同薬によるメタボリックスイッチの本態に迫るためには、従来の常識に捉われない思考が必要であると考えられる。

利益相反自己申告：MSD(奨学寄附金)、田辺三菱製薬(奨学寄附金)、ノバルティスファーマ(奨学寄附金)、持田製薬(原末提供)、興和(原末提供)

## 文献

1. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, Mattheus M, Devins T, Johansen OE, Woerle HJ, Broedl UC, Inzucchi SE, EMPA-REG OUTCOME Investigators. Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2015 ; 373 : 2117-2128.
2. Cherney DZI, Zinman B, Inzucchi SE, Koitka-Weber A, Mattheus M, von Eynatten M, Wanner C. Effects of empagliflozin on the urinary albumin-to-creatinine ratio in patients with type 2 diabetes and established cardiovascular disease : an exploratory analysis from the EMPA-REG OUTCOME randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017 ; 5 : 610-621.
3. Neal B, Perkovic V, Mahaffey KW, de Zeeuw D, Fulcher G, Erondun N, Shaw W, Law G, Desai M, Matthews DR, CANVAS Program Collaborative Group. Canagliflozin and cardiovascular and renal events in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2017 ; 377 : 644-657.
4. Mudaliar S, Alloju S, Henry RR. Can a shift in fuel energetics explain the beneficial cardiorenal outcomes in the EMPA-REG OUTCOME Study? A unifying hypothesis. *Diabetes Care* 2016 ; 39 : 1115-1122.
5. Chang YK, Choi H, Jeong JY, Na KR, Lee KW, Lim BJ, Choi DE.

- Dapagliflozin, SGLT2 inhibitor, attenuates renal ischemia-reperfusion injury. *PLoS One* 2016 ; 11 : e0158810.
6. Vallon V, Gerasimova M, Rose MA, Masuda T, Satriano J, Mayoux E, Koepsell H, Thomson SC, Rieg T. SGLT2 inhibitor empagliflozin reduces renal growth and albuminuria in proportion to hyperglycemia and prevents glomerular hyperfiltration in diabetic Akita mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014 ; 306 : F194-204.
  7. Nosadini R, Trevisan R, Fioretto P, Semplicini A, Samà B, Velussi M, Da Campo GL, Avogaro A, Vizzaccaro A, Donadon V. Kidney hemodynamics after ketone body and amino acid infusion in normal and IDDM subjects. *Diabetes* 1989 ; 38 : 75-83.
  8. Coughlan MT, Nguyen TV, Penfold SA, Higgins GC, Thallas-Bonke V, Tan SM, Van Bergen NJ, Sourris KC, Harcourt BE, Thorburn DR, Trounce IA, Cooper ME, Forbes JM. Mapping time-course mitochondrial adaptations in the kidney in experimental diabetes. *Clin Sci (Lond)* 2016 ; 130 : 711-720.
  9. Wang W, Wang Y, Long J, Wang J, Haudek SB, Overbeek P, Chang BHJ, Schumacker PT, Danesh FR. Mitochondrial fission triggered by hyperglycemia is mediated by ROCK1 activation in podocytes and endothelial cells. *Cell Metab* 2012 ; 15 : 186-200.
  10. Tang WX, Wu WH, Zeng XX, Bo H, Huang SM. Early protective effect of mitofusion 2 overexpression in STZ-induced diabetic rat kidney. *Endocrine* 2012 ; 41 : 236-247.
  11. Ishihara T, Ban-Ishihara R, Maeda M, Matsunaga Y, Ichimura A, Kyogoku S, Aoki H, Katada S, Nakada K, Nomura M, Mizushima N, Mihara K, Ishihara N. Dynamics of mitochondrial DNA nucleoids regulated by mitochondrial fission is essential for maintenance of homogeneously active mitochondria during neonatal heart development. *Mol Cell Biol* 2015 ; 35 : 211-2123.
  12. Wang L, Ishihara T, Ibayashi Y, Tatsushima K, Setoyama D, Hanada Y, Takeichi Y, Sakamoto S, Yokota S, Mihara K, Kang D, Ishihara N, Takayanagi R, Nomura M. Disruption of mitochondrial fission in the liver protects mice from diet-induced obesity and metabolic deterioration. *Diabetologia* 2015 ; 58 : 2371-2380.
  13. Galvan DL, Badal SS, Long J, Chang BH, Schumacker PT, Overbeek PA, Danesh FR. Real-time *in vivo* mitochondrial redox assessment confirms enhanced mitochondrial reactive oxygen species in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2017 ; 92 : 1282-1287.
  14. Dugan LL, You YH, Ali SS, Diamond-Stanic M, Miyamoto S, DeClevés AE, Andreyev A, Quach T, Ly S, Shekhtman G, Nguyen W, Chepetan A, Le TP, Wang L, Xu M, Paik KP, Fogo A, Viollet B, Murphy A, Brosius F, Naviaux RK, Sharma K. AMPK dysregulation promotes diabetes-related reduction of superoxide and mitochondrial function. *J Clin Invest* 2013 ; 123 : 4888-4899.
  15. Börgeson E, Wallenius V, Syed GH, Darshi M, Lantero Rodriguez J, Björserud C, Ragnmark Ek M, Björklund P, Quiding-Järbrink M, Fändriks L, Godson C, Sharma K. AICAR ameliorates high-fat diet-associated pathophysiology in mouse and *ex vivo* models, independent of adiponectin. *Diabetologia* 2017 ; 60 : 729-739.
  16. Sedeek M, Nasrallah R, Touyz RM, Hébert RL. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and the kidney : friend and foe. *J Am Soc Nephrol* 2013 ; 24 : 1512-1518.
  17. Jha JC, Gray SP, Barit D, Okabe J, El-Osta A, Namikoshi T, Thallas-Bonke V, Wingler K, Szyndralewicz C, Heitz F, Touyz RM, Cooper ME, Schmidt HHHW, Jandeleit-Dahm KA. Genetic targeting or pharmacologic inhibition of NADPH oxidase nox4 provides renoprotection in long-term diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2014 ; 25 : 1237-1254.
  18. Winiarska K, Grabowski M, Rogacki MK. Inhibition of renal gluconeogenesis contributes to hypoglycaemic action of NADPH oxidase inhibitor, apocynin. *Chem Biol Interact* 2011 ; 189 : 119-126.
  19. Qi W, Keenan HA, Li Q, Ishikado A, Kannt A, Sadowski T, Yorek MA, Wu I-H, Lockhart S, Coppey LJ, Pfenninger A, Liew CW, Qiang G, Burkart AM, Hastings S, Pober D, Cahill C, Niewczasz MA, Israelsen WJ, Tinsley L, Stillman IE, Amenta PS, Feener EP, Vander Heiden MG, Stanton RC, King GL. Pyruvate kinase M2 activation may protect against the progression of diabetic glomerular pathology and mitochondrial dysfunction. *Nat Med* 2017 ; 23 : 753-762.
  20. Kang HM, Ahn SH, Choi P, Ko Y-A, Han SH, Chinga F, Park ASD, Tao J, Sharma K, Pullman J, Bottinger EP, Goldberg IJ, Susztak K. Defective fatty acid oxidation in renal tubular epithelial cells has a key role in kidney fibrosis development. *Nat Med* 2014 ; 21 : 37-46.
  21. Sas KM, Kayampilly P, Byun J, Nair V, Hinder LM, Hur J, Zhang H, Lin C, Qi NR, Michailidis G, Groop PH, Nelson RG, Darshi M, Sharma K, Schelling JR, Sedor JR, Pop-Busui R, Weinberg JM, Soleimanpour SA, Abcouwer SF, Gardner TW, Burant CF, Feldman EL, Kretzler M, Brosius FC, Pennathur S. Tissue-specific metabolic reprogramming drives nutrient flux in diabetic complications. *JCI insight* 2016 ; 1 : e86976.
  22. Trionfani P, Benigni A. MicroRNAs as master regulators of glomerular function in health and disease. *J Am Soc Nephrol* 2017 ; 28 : 1686-1696.
  23. Kato M, Wang M, Chen Z, Bhatt K, Oh HJ, Lanting L, Deshpande S, Jia Y, Lai JYC, O'Connor CL, Wu Y, Hodgins JB, Nelson RG, Bitzer M, Natarajan R. An endoplasmic reticulum stress-regulated lncRNA hosting a microRNA megacluster induces early features of diabetic nephropathy. *Nat Commun* 2016 ; 7 : 12864.
  24. Badal SS, Wang Y, Long J, Corcoran DL, Chang BH, Truong LD, Kanwar YS, Overbeek PA, Danesh FR. miR-93 regulates Msk2-mediated chromatin remodelling in diabetic nephropathy. *Nat Commun* 2016 ; 7 : 12076.
  25. Long J, Badal SS, Ye Z, Wang Y, Ayanga BA, Galvan DL, Green NH, Chang BH, Overbeek PA, Danesh FR. Long noncoding RNA Tug1 regulates mitochondrial bioenergetics in diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 2016 ; 126 : 4205-4218.
  26. Takabatake Y, Kimura T, Takahashi A, Isaka Y. Autophagy and the kidney : health and disease. *Nephrol Dial Transplant* 2014 ; 29 : 1639-1647.

27. Lenoir O, Jasiek M, Hénique C, Guyonnet L, Hartleben B, Bork T, Chipont A, Flosseau K, Bensaada I, Schmitt A, Massé JM, Souyri M, Huber TB, Tharaux PL. Endothelial cell and podocyte autophagy synergistically protect from diabetes-induced glomerulosclerosis. *Autophagy* 2015 ; 11 : 1130-1145.
28. Takahashi A, Takabatake Y, Kimura T, Maejima I, Namba T, Yamamoto T, Matsuda J, Minami S, Kaimori JY, Matsui I, Matsusaka T, Niimura F, Yoshimori T, Isaka Y. Autophagy inhibits the accumulation of advanced glycation end products by promoting lysosomal biogenesis and function in the kidney proximal tubules. *Diabetes* 2017 ; 66 : 1359-1372.
29. Tagawa A, Yasuda M, Kume S, Yamahara K, Nakazawa J, Chinkanasaki M, Araki H, Araki SI, Koya D, Asanuma K, Kim EH, Haneda M, Kajiwara N, Hayashi K, Ohashi H, Ugi S, Maegawa H, Uzu T. Impaired podocyte autophagy exacerbates proteinuria in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2016 ; 65 : 755-767.
30. Gödel M, Hartleben B, Herbach N, Liu S, Zschiedrich S, Lu S, Debreczeni-Mór A, Lindenmeyer MT, Rastaldi MP, Hartleben G, Wiech T, Fornoni A, Nelson RG, Kretzler M, Wanke R, Pavenstädt H, Kerjaschki D, Cohen CD, Hall MN, Rüegg MA, Inoki K, Walz G, Huber TB. Role of mTOR in podocyte function and diabetic nephropathy in humans and mice. *J Clin Invest* 2011 ; 121 : 2197-2209.
31. Sivertsson E, Friederich-Persson M, Öberg CM, Fasching A, Hansell P, Rippe B, Palm F. Inhibition of mammalian target of rapamycin decreases intrarenal oxygen availability and alters glomerular permeability. *Am J Physiol Renal Physiol* 2017 ; ajprenal000332017.
32. Yamahara K, Kume S, Koya D. Obesity-mediated autophagy insufficiency exacerbates proteinuria-induced tubulointerstitial lesions. *J Am Soc Nephrol* 2013 ; 24 : 1769-1781.
33. Yamamoto T, Takabatake Y, Takahashi A, Kimura T, Namba T, Matsuda J, Minami S, Kaimori J-Y, Matsui I, Matsusaka T, Niimura F, Yanagita M, Isaka Y. High-fat diet-induced lysosomal dysfunction and impaired autophagic flux contribute to lipotoxicity in the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2017 ; 28 : 1534-1551.
34. Maejima I, Takahashi A, Omori H, Kimura T, Takabatake Y, Saitoh T, Yamamoto A, Hamasaki M, Noda T, Isaka Y, Yoshimori T. Autophagy sequesters damaged lysosomes to control lysosomal biogenesis and kidney injury. *EMBO J* 2013 ; 32 : 2336-2347.
35. Li W, Du M, Wang Q, Ma X, Wu L, Guo F, Ji H, Huang F, Qin G. FoxO1 promotes mitophagy in the podocytes of diabetic male mice via the PINK1/Parkin pathway. *Endocrinology* 2017 ; 158 : 2155-2167.
36. Zhan M, Usman IM, Sun L, Kanwar YS. Disruption of renal tubular mitochondrial quality control by Myo-inositol oxygenase in diabetic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2015 ; 26 : 1304-1321.