

バルドキシロンメチルの糖尿病性腎臓病に対する効果

Effect of bardoxolone methyl on diabetic kidney disease

坂下 碧 田中哲洋 南学正臣

Midori SAKASHITA, Tetsuhiro TANAKA, and Masaomi NANGAKU

はじめに

糖尿病性腎臓病(DKD)の発症・進行には多くの要因がかかわっている。糸球体内圧の上昇を介した機序に加えて、酸化ストレスや炎症、ミトコンドリア機能の障害、小胞体ストレス、終末糖化産物、サイトカイン・成長因子あるいはヒストン・クロマチン修飾や micro RNA などのエピジェネティックな機序の関与が報告されている。これらのメカニズムに関する研究が進んでいる一方で、病態生理の全体像はいまだ明らかではない¹⁾。

現時点でDKDの進行を遅らせる治療としては、血圧・血糖のコントロール、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬・アンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)による蛋白尿抑制・腎機能低下抑制が知られており、脂質異常症・高血圧なども含めた多角的なアプローチにより腎予後の改善が得られるとされる²⁾。実際、治療の変化と患者年齢の高齢化に伴って、DKDの病像も変化を見せてきている³⁾。ただ、病態に対する特異的な効果を持つ治療薬はなく、また、DKD患者は他の原因による慢性腎臓病(CKD)患者よりも推定糸球体濾過量(eGFR)低下が早く⁴⁾、わが国の透析導入の原因として最も多い⁵⁾ことから新薬の開発が熱望されている。このような状況のなか、バルドキシロンメチルの腎保護効果の可能性は注目されており、本稿では、その転写因子Nrf2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2)活性化薬としての期待される作用と懸念すべき副作用に関して概説する。

バルドキシロンメチル

バルドキシロンメチル(bardoxolone methyl, 別名: RTA-402, CDDO-Me)はC30化合物、オレイン酸骨格を持つ合成トリテルペノイドの一種であり、これらのCDDO化合物はNO合成やシクロオキシゲナーゼ(COX-2)などの炎症性物質を抑制する。当初、バルドキシロンメチルは悪性腫瘍の治療薬として開発され、実験動物への投与により前立腺癌、膵癌、エストロゲン受容体陰性乳癌などにおいて腫瘍の増殖が抑制され、膵癌、直腸癌、卵巣癌、膠芽腫、神経芽腫などの細胞においても増殖抑制効果を有することが示唆された⁶⁾。腫瘍抑制の作用機序についてはNrf2活性化に加えてnuclear factor kappa B(NF-κB)経路などを抑制することによるとされるが、悪性腫瘍に対する臨床試験においてバルドキシロンメチル投与群で血清クレアチニンの低下を認めたことから、CKDの治療薬として脚光を浴びることとなった⁷⁾。

Nrf2の酸化ストレスへの応答

バルドキシロンメチルのDKDに対する腎機能改善の機序はすべてが解明されているわけではないが、主に転写因子Nrf2の活性化を介した抗酸化作用が大きな役割を果たしていると考えられている⁸⁾。

Nrf2は酸化ストレスへの応答を主な働きとした、生体の恒常性を維持する転写因子である。通常酸化ストレスがない状態では細胞質でKelch-like erythroid cell-derived protein with CNC homology-associated protein 1(Keap1)により捕捉され、Cullin型E3ユビキチンリガーゼを介したユビキチン化を受けてプロテアソームによって分解されることで一定の低い濃度に維持されている。一方で、Keap1は反応性

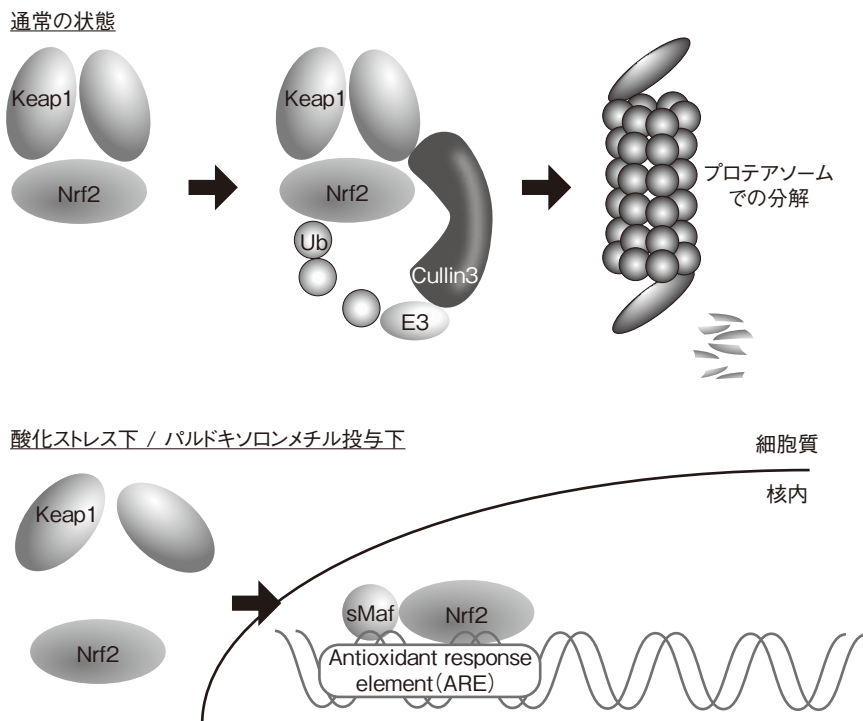


図 Nrf2 の細胞内での働き

Nrf2 は通常の状態では Keap1 に捕捉され、Cullin3 型 E3 ユビキチンリガーゼによりユビキチン (Ub) 化を受け、プロテアソームで分解される。一方、酸化ストレス下あるいはパルドキソロンメチル投与下では Keap1 の構造変化が起こることで Nrf2 が分解されずに核内に移行し、small musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homologue (sMaf) とともに antioxidant response element (ARE) に結合し、下流遺伝子の発現が起こる。

の高いシステイン残基を複数有しており、酸化ストレスや親電性物質が Keap1 のシステイン残基に反応することで Keap1 の Nrf2 への親和性が低下し、Nrf2 が分解を逃れて核内に移行すると速やかに核内の Nrf2 濃度が上昇する。核内で Nrf2 は small musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homologue (sMaf) とともに antioxidant response element (ARE) と呼ばれる配列に結合し、250 種類以上もの抗酸化・抗炎症にかかわる遺伝子の発現が調整される (図)。Nrf2 の代表的な標的遺伝子としては、NAD(P)H キノン還元酵素 (NQO1)、グルタチオン S 転移酵素 (GST) などの解毒酵素群、グルタチオン合成酵素、ヘムオキシゲナーゼ 1 (HO-1)、チオレドキシシン、スーパーオキシサイドディスムターゼ (SOD) やカタラーゼなどの酸化ストレス防御にかかわるものなどが知られている。なお、マクロファージにおいては Nrf2 が転写レベルで直接的に炎症サイトカインを抑制することもわかっている⁹⁾。パルドキソロンメチルを含めた Nrf2 活性化薬の多くは Keap1 の構造を変化させることで

Keap1 と Nrf2 を解離させ、Nrf2 の核内への移動を可能とする。これにより酸化ストレスと炎症の亢進がその進行に関与しているとされる DKD において特に効果を発揮すると考えられている¹⁰⁾。

Nrf2 は次項に示すように臓器保護に重要な意味を持つばかりでなく、Nrf2 の活性の上昇が寿命の延長につながる可能性を示す研究成果が出ている。寿命約 30 年のハダカデバネズミを筆頭に 10 種ほどの齧歯類の平均寿命と肝臓の核抽出液における Nrf2 の DNA 結合活性と寿命が正の相関を、Keap1 蛋白質の量と寿命が負の相関を示した¹¹⁾。また、早老症であるハッチンソン・ギルフォード症候群の原因蛋白は核膜を裏打ちするラミン A が変異した Progerin であるが、この Progerin により Nrf2 の核内での ARE 配列への結合が障害され、Nrf2 の下流遺伝子の発現が低下していることが知られている¹²⁾。このような多面的役割を果たす Nrf2 の活性を調整する物質はさまざまな慢性疾患の治療に役立つと考えられ¹³⁾、新たに Nrf2 活性を上昇させる物質の研究

により Nrf2 が代謝経路を制御していることがわかるなど、現在もその機能や創薬の探索が進んでいる¹⁴⁾。実際、Nrf2 活性化薬の一つであるフマル酸ジメチルは多発性硬化症や乾癬の治療薬として認可されている。

Nrf2 の腎臓における働き

Nrf2 の機能に関しては、ノックアウトマウスの作製により飛躍的に理解が進んだ。Nrf2 ノックアウトマウスは正常発生し、若年では明らかな異常を認めない^{15,16)}が、ICR 系統の雌のノックアウトマウスでは 60 週齢を超えるとループス腎炎様の自己免疫性腎炎をきたし、腎機能の低下と生命予後の悪化がみられた¹⁷⁾。また、リポポリサッカライド (LPS) による敗血症モデル^{18,19)}、喫煙関連肺障害モデル²⁰⁾、アセトアミノフェン誘発の肝障害^{21~23)}などで Nrf2 ノックアウトマウスでは生存率が低下し、Nrf2 による臓器保護作用が認められた。これらの結果から、Keap1 ノックアウトマウスは Nrf2 活性の上昇によりスーパーマウスとなることが期待されたが、食道の過角化などのために生後 21 日以内に全数が死亡した²⁴⁾。そこで Keap1 のコンディショナルノックアウトマウスが開発され^{23,25)}、Nrf2 の活性上昇による効果に関しては、これらのマウスあるいは Nrf2 活性化薬を用いて検討が進んでいる。

Nrf2 ノックアウトマウスでは先に述べた加齢に伴う腎炎所見のほか、糖尿病モデル²⁶⁾、虚血再灌流モデル^{27,28)}、シスプラチン投与モデル²⁷⁾、ループス腎炎モデル²⁹⁾などさまざまなモデルにおいて腎機能障害・腎組織の悪化が顕著であった。これら腎臓に関するモデル動物での Nrf2 の役割を示した主な研究成果を表 1 に示す。虚血再灌流モデルにおいては Nrf2 の下流遺伝子の発現が増加することが知られており³⁰⁾、Nrf2 ノックアウトマウスでは尿細管障害が顕著となるのに対して、Keap1 ノックダウンにより Nrf2 の活性が上昇したマウスでは障害の改善がみられた。Nrf2 下流の遺伝子は主に尿細管で発現し、解糖系とクエン酸回路の抑制が起こると同時にグルタチオンや NADPH などの抗酸化物質を含む多数の遺伝子の発現が増加することで、再灌流初期の腎障害を抑制することが示された²⁸⁾。これに加え、T 細胞での Keap1 ノックアウトを行ったマウスでは、虚血再灌流モデルでのクレアチニン上昇が抑制された³¹⁾。

他の原因による CKD と同様、酸化ストレスは DKD の発症と進行に大きく関与する³²⁾。酸化ストレスの指標となる尿中 8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン (8-OHdG) を測定した研究では、糖尿病患者において 8-OHdG の値が高

く、蛋白尿などの他の合併症の指標とも相関を認めた³³⁾。また、2 型糖尿病患者の腎組織では Nrf2 の発現が上昇していた²⁶⁾。ストレプトゾトシン投与による糖尿病モデルにおいて Nrf2 ノックアウトマウスでは酸化ストレスがさらに増大し、腎機能、腎組織の悪化も著明であった²⁶⁾。このほか、Nrf ノックアウトマウスでは白色脂肪組織の量が著明に低下する一方で、db/db マウスをバックグラウンドとした Nrf ノックアウトマウスは更なる脂質異常をきたした。これらのことから、糖尿病における Nrf2 の作用として、膵β細胞に保護的に働くほか³⁴⁾、インスリン抵抗性も改善させることがわかっている。

糖尿病性腎臓病に対するこれまでの臨床試験の結果

前述のように、バルドキシロンメチルは当初悪性腫瘍の治療目的に開発されたが、悪性腫瘍患者を対象とした第 I 相試験を行った際に、腎機能低下のある患者においてクレアチニン低下と eGFR の上昇を認めた⁷⁾。その後、糖尿病のある eGFR 30 mL/分/1.73 m² 程度の CKD 患者 18 例に対して第 II 相試験を行い安全性が確認されたため^{48,49)}、より大規模な臨床試験が行われた。

その 1 つが第 II 相試験の BEAM study⁴⁹⁾であり、eGFR が 20~45 mL/分/1.73 m² の CKD のある 2 型糖尿病患者を対象に施行したランダム化二重盲検プラセボ対照試験であった。ACE 阻害薬、アンジオテンシン受容体阻害薬 (ARB) で少なくとも 8 週間治療した成人患者 227 例をプラセボ群、バルドキシロンメチル目標用量 25 mg 群、75 mg 群、150 mg 群 (各々 1 日 1 回内服) に割り付けて評価した。結果としては、バルドキシロンメチル投与群では投与開始 4 週間後より eGFR が上昇し、12 週でピークとなり、以降 52 週まで持続した。主要評価項目としていた 24 週の時点での eGFR 変化量がプラセボ群と比較して有意に高く、その変化量の平均値はいずれの群も 10 mL/分/1.73 m² 程度であった。この eGFR の上昇は二次評価項目となっていた 52 週の時点でも保たれた。一方、アルブミン尿は 24 週の時点と 52 週の時点で増加した。バルドキシロンメチル投与群で最も高頻度に認められた有害事象は筋痙攣で、半数程度にみられたが軽度のものであった。その他、低マグネシウム血症、ALT の軽度上昇、胃腸障害がプラセボ群と比較してより多く認められたものの、総じて DKD 治療に有望である可能性が示唆された。

この結果を受けて行われたのが第 III 相試験である BEACON trial⁵⁰⁾であり、eGFR が 15~30 mL/分/1.73 m² とステ

表1 Nrf2の腎臓における働き

モデル	介入	研究の概要	文献番号
加齢	Nrf2-KO	雌マウスで死亡率の上昇と腎機能悪化を認め、脾臓の重量上昇、ds DNA 上昇を伴うループス腎炎様所見を認めた。	17, 35
ループス腎炎モデル (MRL/lpr マウス)	Nrf2-KO	Nrf2-KO マウスでは腎機能と生存率が改善し、免疫複合体沈着を伴う腎組織が改善した。	36
ループス腎炎モデル (pristane 投与)	Nrf2-KO	Nrf2-KO マウスで生存率の低下、脾臓重量の増大、腎組織での酸化ストレスの上昇と線維化の増悪を認めた。	29
糖尿病 (ストレプトゾトシン投与)	Nrf2-KO	Nrf2-KO はストレプトゾトシン投与後の血糖上昇は同様であったが、クレアチニンクリアランスの低下、尿蛋白、腎組織の悪化、AGE、酸化ストレスや線維化マーカーの上昇を認めた。これらは Nrf2 活性化薬投与で改善した。	26, 37, 38
虚血・再灌流 (両側)	Nrf2-KO	Nrf2-KO マウスではクレアチニン上昇、組織学的変化の悪化を認め、サイトカインの上昇も顕著であったが、N-アセチルシステインの前投薬でクレアチニン上昇が軽減した。	27
	CDDO-Imidazole (Im) ・バルドキシロンメチル投与	CDDO-Im の前投薬群では生命予後、腎機能、腎組織障害が改善し、急性期の炎症サイトカインが低下した。	39, 40
虚血・再灌流 (片側)	Nrf2-KO Keap1-KD Keap1-CKO	Nrf2-KO マウスでは尿細管障害、酸化ストレスの増悪を認めた一方、Keap1-KD や Keap1-CKO ではクレアチニン上昇の抑制と抗酸化マーカーの上昇を認めた。	28
敗血症	LysM-Keap1-KO LysM-Nrf2-KO	LysM-Keap1-KO マウスでは敗血症モデルで生存率の上昇とBUN, AST, 炎症性サイトカインの改善を認め、LysM-Nrf2-KO マウスではこれらの増悪を認めた。	41
薬剤性腎症(シスプラチン)	Nrf2-KO CDDO-Im	Nrf2-KO マウスではシスプラチンなどの毒性物質による死亡率の上昇、クレアチニン上昇、腎組織の障害が増悪し、CDDO-Im 投与により腎組織の改善を認めた。	27, 42, 43
NEP25-induced podocyte injury	Keap1-KD	Keap1-KD マウスでは腎組織、線維化マーカー、ポドサイト障害が改善した。	44
ミオグロビン腎症 (グリセロール投与ラット)	なし	グリセロール投与群で Nrf2 の下流遺伝子の発現増加を認めた。Chlormethiazole により障害が軽減された。	45
5/6 腎摘ラット	なし	5/6 腎摘群では経時的に Nrf2 の発現低下と Keap1 の発現上昇を認めた。	46
カニクイザル	バルドキシロンメチル	バルドキシロンメチル投与により、クレアチニンクリアランスの上昇と尿中アルブミンの増加を認めた。1年間の投与で血液検査・腎組織の異常は明らかではなく、尿中アルブミンの増加には尿細管での Megalin 発現の低下が関与している可能性がある。	47

モデル動物を用いた、Nrf2の腎臓における働きを示した主な研究を示した。

KO: knock out, CKO: conditional knock out, KD: knock down, ds-DNA: double strand DNA, AGE: advanced glycation end products, CDDO: 2-cyano-3,12-dioxoolean-1,9-dien-28-oic acid, BUN: 血中尿素窒素, AST: aspartate transaminase

ジG4のCKDのある2型糖尿病患者に対してランダム化二重盲検プラセボ対照試験で行われた多施設研究である。2,185例の成人患者をプラセボ群とバルドキシロンメチル20mg群に分け、主要評価項目は末期腎不全あるいは心血管イベントによる死亡の発生とされた(バルドキシロンメチルの用量の違いは剤形によるものであり、本試験での20

mg投与は前述のBEAM試験の75mg投与に相当するものであった)。しかし、中央値9カ月の時点で二次評価項目とされていた心血管イベントの複合アウトカムと心不全の発症がバルドキシロンメチル群で有意に多かったことから、安全性の観点から試験が中止された。主要複合アウトカム(末期腎不全または心血管イベントによる死亡)や末期腎不

表 2 2 型糖尿病の慢性腎臓病患者に対するバルドキシロンメチルの臨床試験

臨床試験	対象者の腎機能	症例数 (例)	投与量 (mg/日)	期間	Δ eGFR(平均 \pm 標準偏差) (mL/分/1.73 m ²)
第 I 相 ⁷⁾ (悪性腫瘍対象)	Ccr \geq 60 または Cr <2.0 eGFR <60 (サブ解析)	36 (10)	5~1,300 5~1,300	21 日間 21 日間	26.4% \pm 3.2% 35.6% \pm 6.8%
第 II 相 ⁴⁸⁾	男性 1.5 \leq Cr \leq 3.0 女性 1.3 \leq Cr \leq 3.0	18	25~75	8 週	7.2 \pm 5.3
第 II 相(BEAM ⁴⁹⁾)	20 \leq eGFR \leq 45	227	25 25~75 25~100	24 週(52 週)	※括弧内は 52 週の結果 8.2 \pm 1.5 (5.8 \pm 1.8) 11.4 \pm 1.5 (10.5 \pm 1.8) 10.4 \pm 1.5 (9.3 \pm 1.9)
第 III 相(BEACON ⁵⁰⁾)	15 \leq eGFR <30	2185	20	9 カ月	5.5 \pm 0.2
第 II 相(TSUBAKI)	30 \leq eGFR <60 かつ ACR <300, 15 \leq eGFR <30 かつ ACR <2,000	120	5~15	16 週	(未発表)
第 III 相(AYAME)	15 \leq eGFR <60, ACR \leq 3,500	(700)	5~15	2~3 年	(進行中)

各臨床試験における治療群におけるベースラインからの推定糸球体濾過量(eGFR)の変化を Δ eGFR として示す。

単位はクレアチンクリアランス(CCr): mL/分, クレアチニン(Cr): mg/dL, eGFR: mL/分/1.73 m², アルブミン・クレアチニン比(ACR): mg/gCr

全の発症に関して統計学的に有意差は認めなかった。一方、バルドキシロンメチル群で 1,088 例中 96 例が心不全で入院あるいは死亡し、プラセボ群では 1,097 例中 55 例であったのと比較しハザード比は 1.83(95% 信頼区間は 1.32~2.55, $p < 0.01$)と有意な増加を認めた。その他、バルドキシロンメチル群では eGFR, 血圧, 尿中アルブミン・クレアチニン比(ACR)が有意に上昇し, 体重の減少がみられた。BEACON trial での心不全発症のリスクファクターとして BNP 基礎値高値(>200 pg/mL), 心不全の入院歴があげられた。機序としては, バルドキシロンメチルが腎臓において体液量調整に関与するエンドセリンの発現に関与している可能性が示唆され, これにより塩分貯留, 水分貯留をきたして心不全の発症につながった可能性がある⁵¹⁾。

国内の臨床試験

BEACON trial 中断の結果を受けて日本での臨床試験も一時的に中断されたが, その後, 心不全のリスクを有する患者を厳密に除外したうえで 2 型糖尿病を有するステージ 3, 4 の CKD 患者を対象とした国内第 II 相試験である TSUBAKI 試験(ClinicalTrials.gov 番号: NCT 02316821)が 2014 年 12 月より再開され 2017 年 9 月に完了した。この試験では 2 型糖尿病を有する CKD 患者(15 \leq eGFR < 60 mL/分/1.73 m²)のうち ACE 阻害薬または ARB を内服中の患者

を対象に行われたものである。CKD ステージ G3 で ACR < 300 mg/gCr の患者: G3 群と CKD ステージ G4 のうち ACR < 2,000 mg/gCr の患者: G4 群をプラセボ群とバルドキシロンメチル投与群に割り振り, 1 日 1 回 5~15 mg のバルドキシロンメチルを 16 週間投与し安全性と有効性を評価した。1 型糖尿病患者, BNP > 200 pg/mL の患者, 心不全の既往のある患者は除外した。G3 群ではクレアチニンの体内動態にバルドキシロンメチルが影響する可能性を除外するためにイヌリンクリアランスで GFR を測定し, その変化量をみた。バルドキシロンメチル投与群の GFR は投与開始 16 週後に試験開始時と比較して 6.64 mL/分/1.73 m² の上昇を認めた⁵²⁾。現在, CKD ステージ G3・G4 の DKD 患者を対象に第 III 相試験にあたる a phase 3 study of bardoxolone methyl in patients with diabetes (AYAME) 試験(ClinicalTrials.gov 番号: NCT02316821)が開始されており, 主要評価項目をベースラインから 30% 以上の eGFR 低下⁵³⁾, または末期腎不全が最初に発現するまでの期間として研究が進められている。

なお, バルドキシロンメチルに関しては, 結合組織病に伴う肺動脈性肺高血圧症の国際共同第 III 相試験である CATALYST 試験, Alport 症候群の腎機能に対するバルドキシロンメチルの効果をみる第 II・III 相の CARDINAL 試験なども進行している。

特異的な治療のない DKD において GFR の上昇をもたら

すバルドキソロンメチルの効果は非常に画期的であり、GFR 上昇のみならず腎組織の改善も示唆されていることは注目に値する。一方で、現在の治療の主流である ACE 阻害薬や ARB は過剰濾過の抑制により長期予後が改善されていることや、アルブミン尿が腎予後、心血管イベントの発生、生命予後に影響するとされていること⁵⁴⁾を考えると、GFR を上昇させアルブミン尿も増加させるバルドキソロンメチルの長期成績は注意深く観察する必要がある⁵⁵⁾。同時に、腎保護を目的とした同薬の使用がアルポート症候群など他の腎疾患に対しても検討される見込みであるが、疾患の長期予後を改善するのか注意が必要である。

おわりに

酸化ストレスへの応答は生体防御に必須の機能である一方、自己免疫性疾患や悪性腫瘍だけでなく心血管疾患や CKD の発症にも大きく関与し、その分子的な機序が明らかになるとともに創薬も進みつつある。一方で、バルドキソロンメチルのように多くの遺伝子の発現を制御する転写因子活性を変化させる薬剤は、全身の臓器に対して代謝も含めてさまざまに作用する可能性があるため、標的としたい臓器や細胞内での分子経路以外にも重篤な影響を及ぼす危険性がある。今後も Nrf2 を介した経路のみならず、低酸素応答、抗炎症、酸化ストレスをもたらす創薬により DKD の予後が改善されることが期待される。

利益相反自己申告：

南学正臣；協和発酵キリン(報酬額、講演料、原稿料、奨学寄附金)

田中哲洋；協和発酵キリン(講演料)

文 献

- Hirakawa Y, Tanaka T, Nangaku M. Mechanisms of metabolic memory and renal hypoxia as a therapeutic target in diabetic kidney disease. *J Diabetes Invest* 2017 ; 8 : 261–271.
- Gaede P, Lund AH, Parving HH, Pedersen O, Gaede P, Lund-Andersen H, Parving HH, et al. Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008 ; 358 : 580–591.
- Afkarian M, Zelnick LR, Hall YN, Heagerty PJ, Tuttle K, Weiss NS, De Boer IH. Clinical manifestations of kidney disease among US adults with diabetes, 1988-2014. *JAMA* 2016 ; 316 : 602–610.
- Warren B, Rebholz CM, Sang Y, Lee AK, Coresh J, Selvin E, Grams ME. Diabetes and trajectories of estimated glomerular filtration rate : a prospective cohort analysis of the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes Care* 2018 ; 41 : 1646–1653.
- 日本透析医学会統計調査委員会. わが国の慢性透析療法の現況 (2017 年 12 月 31 日現在). *透析会誌* 2018 ; 51 : 699–766.
- Wang YY, Zhe H, Zhao R. Preclinical evidences toward the use of triterpenoid CDDO-Me for solid cancer prevention and treatment. *Mol Cancer* 2014 ; 13 : 1–8.
- Hong DS, Kurzrock R, Supko JG, He X, Naing A, Wheler J, Lawrence D, Eder JP, Meyer CJ, Ferguson DA, Mier J, Konopleva M, Konoplev S, Andreeff M, Kufe D, Lazarus H, Shapiro GI, Dezube BJ. A phase I first-in-human trial of bardoxolone methyl in patients with advanced solid tumors and lymphomas. *Clin Cancer Res* 2012 ; 18 : 3396–3406.
- Shelton LM, Lister A, Walsh J, Jenkins RE, Wong MHL, Rowe C, Ricci E, Ressel L, Fang Y, Demougin P, Vukojevic V, O'Neill PM, Goldring CE, Kitteringham NR, Park BK, Odermatt A, Copple IM. Integrated transcriptomic and proteomic analyses uncover regulatory roles of Nrf2 in the kidney. *Kidney Int* 2015 ; 88 : 1261–1273.
- Kobayashi EH, Suzuki T, Funayama R, Nagashima T, Hayashi M, Sekine H, Tanaka N, Moriguchi T, Motohashi H, Nakayama K, Yamamoto M. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. *Nat Commun* 2016 ; 7 : 1–14.
- Ruiz S, Pergola PE, Zager RA, Vaziri ND. Targeting the transcription factor Nrf2 to ameliorate oxidative stress and inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2013 ; 83 : 1029–1041.
- Lewis KN, Wason E, Edrey YH, Kristan DM, Nevo E, Buffenstein R. Regulation of Nrf2 signaling and longevity in naturally long-lived rodents. *Proc Natl Acad Sci* 2015 ; 112 : 3722–3727.
- Kubben N, Zhang W, Wang L, Voss TC, Yang J, Qu J, Liu GH, Misteli T. Repression of the antioxidant NRF2 pathway in premature aging. *Cell* 2016 ; 165 : 1361–1374.
- Cuadrado A, Manda G, Hassan A, Alcaraz MJ, Barbas C, Daiber A, Ghezzi P, León R, López MG, Oliva B, Pajares M, Rojo AI, Robledinos-Antón N, Valverde AM, Guney E, Schmidt HHHW. Transcription factor NRF2 as a therapeutic target for chronic diseases : a systems medicine approach. *Pharmacol Rev* 2018 ; 70 : 348–383.
- Bollong MJ, Lee G, Coukos JS, Yun H, Zambaldo C, Chang JW, Chin EN, Ahmad I, Chatterjee AK, Lairson LL, Schultz PG, Moellering RE. A metabolite-derived protein modification integrates glycolysis with KEAP1–NRF2 signalling. *Nature* 2018 ; 562 : 600–604.
- Chan K, Lu R, Chang JC, Kan YW. NRF2, a member of the NFE2 family of transcription factors, is not essential for murine erythropoiesis, growth, and development. *Proc Natl Acad Sci* 1996 ; 93 : 13943–13948.
- Itoh K, Chiba T, Takahashi S, Ishii T, Igarashi K, Katoh Y, Oyake

- T, Yamamoto M, Hayashi N, Satoh K, Igarashi K, Hatayama I, Nabeshima Y. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem Biophys Res Commun* 1997 ; 236 : 313–322.
17. Yoh K, Itoh K, Enomoto A, Hirayama A, Yamaguchi N, Kobayashi M, Morito N, Koyama A, Yamamoto M, Takahashi S. Nrf2-deficient female mice develop lupus-like autoimmune nephritis. *Kidney Int* 2001 ; 60 : 1343–1353.
 18. Biswal S, Traore K, Yates M, Liby KT, Sporn MB, Trush MA, Yamamoto M, Thimmulappa RK, Kensler TW, Scollick C. Nrf2-dependent protection from LPS induced inflammatory response and mortality by CDDO-Imidazolide. *Biochem Biophys Res Commun* 2006 ; 351 : 883–839.
 19. Thimmulappa RK, Lee H, Rangasamy T, Reddy SP, Yamamoto M, Kensler TW, Biswal S. Nrf2 is a critical regulator of the innate immune response and survival during experimental sepsis. *J Clin Invest* 2016 ; 116 : 984–995.
 20. Rangasamy T, Tuder RM, Biswal S, Rangasamy T, Cho CY, Thimmulappa RK, Zhen L. Genetic ablation of Nrf2 enhances susceptibility to cigarette smoke-induced emphysema in mice. *J Clin Invest* 2004 ; 114 : 1248–1259.
 21. Enomoto A, Itoh K, Nagayoshi E, Haruta J, Kimura T, O'Connor T, Harada T, Yamamoto M. High sensitivity of Nrf2 knockout mice to acetaminophen hepatotoxicity associated with decreased expression of ARE-regulated drug metabolizing enzymes and antioxidant genes. *Toxicol Sci* 2001 ; 59 : 169–177.
 22. Chan K, Han XD, Kan YW. An important function of Nrf2 in combating oxidative stress : Detoxification of acetaminophen. *Proc Natl Acad Sci* 2002 ; 98 : 4611–4616.
 23. Okawa H, Motohashi H, Kobayashi A, Aburatani H, Kensler TW, Yamamoto M. Hepatocyte-specific deletion of the Keap1 gene activates Nrf2 and confers potent resistance against acute drug toxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 2006 ; 339 : 79–88.
 24. Wakabayashi N, Itoh K, Wakabayashi J, Motohashi H, Noda S, Takahashi S, Imakado S, Kotsuji T, Otsuka F, Roop DR, Harada T, Engel JD, Yamamoto M. Keap1-null mutation leads to postnatal lethality due to constitutive Nrf2 activation. *Nat Genet* 2003 ; 35 : 238–245.
 25. Taguchi K, Maher JM, Suzuki T, Kawatani Y, Motohashi H, Yamamoto M. Genetic analysis of cytoprotective functions supported by graded expression of Keap1. *Mol Cell Biol* 2010 ; 30 : 3016–3026.
 26. Jiang T, Huang Z, Lin Y, Zhang Z. The protective role of Nrf2 in streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Diabetes* 2010 ; 59 : 850–860.
 27. Liu M, Grigoryev DN, Crow MT, Haas M, Yamamoto M, Reddy SP, Rabb H. Transcription factor Nrf2 is protective during ischemic and nephrotoxic acute kidney injury in mice. *Kidney Int* 2009 ; 76 : 277–285.
 28. Nezu M, Souma T, Yu L, Suzuki T, Saigusa D, Ito S, Suzuki N, Yamamoto M. Transcription factor Nrf2 hyperactivation in early-phase renal ischemia-reperfusion injury prevents tubular damage progression. *Kidney Int* 2017 ; 91 : 387–401.
 29. Jiang T, Tian F, Zheng H, Whitman SA, Lin Y, Zhang Z, Zhang N, Zhang DD. Nrf2 suppresses lupus nephritis through inhibition of oxidative injury and the NF- κ B-mediated inflammatory response. *Kidney Int* 2014 ; 85 : 333–343.
 30. Leonard MO, Taylor CT, Kieran NE, O'Farrelly C, Howell K, Burne MJ, Porter AG, Dhakshinamoorthy S, Varadarajan R, Rabb H. Reoxygenation-specific activation of the antioxidant transcription factor Nrf2 mediates cytoprotective gene expression in ischemia-reperfusion injury. *FASEB J* 2006 ; 20 : 2624–2626.
 31. Noel S, Martina MN, Bandapalle S, Racusen LC, Potteti HR, Hamad ARA, Reddy SP, Rabb H. T lymphocyte-specific activation of Nrf2 protects from AKI. *J Am Soc Nephrol* 2015 ; 26 : 2989–3000.
 32. Shah SV, Baliga R, Rajapurkar M, Fonseca VA. Oxidants in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 16–28.
 33. Dandona P, Thusu K, Cook S, Shyder B, Armstrong D, Nicotera T. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet* 1996 ; 347 : 444–445.
 34. Yagishita Y, Fukutomi T, Sugawara A, Kawamura H, Takahashi T, Pi J, Uruno A, Yamamoto M. Nrf2 protects pancreatic β -cells from oxidative and nitrosative stress in diabetic model mice. *Diabetes* 2014 ; 63 : 605–618.
 35. Ma Q, Battelli L, Hubbs AF. Multiorgan autoimmune inflammation, enhanced lymphoproliferation, and impaired homeostasis of reactive oxygen species in mice lacking the antioxidant-activated transcription factor Nrf2. *Am J Pathol* 2006 ; 168 : 1960–1974.
 36. Morito N, Yoh K, Hirayama A, Itoh K, Nose M, Koyama A, Yamamoto M, Takahashi S. Nrf2 deficiency improves autoimmune nephritis caused by the fas mutation *lpr*. *Kidney Int* 2004 ; 65 : 1703–1713.
 37. Yoh K, Hirayama A, Ishizaki K, Yamada A, Takeuchi M, Yamagishi SI, Morito N, Nakano T, Ojima M, Shimohata H, Itoh K, Takahashi S, Yamamoto M. Hyperglycemia induces oxidative and nitrosative stress and increases renal functional impairment in Nrf2-deficient mice. *Genes to Cells* 2008 ; 13 : 1159–1170.
 38. Zheng H, Whitman SA, Wu W, Wondrak GT, Wong PK, Fang D, Zhang DD. Therapeutic potential of Nrf2 activators in streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Diabetes* 2011 ; 60 : 3055–3066.
 39. Liu M, Reddy NM, Higbee EM, Potteti HR, Noel S, Racusen L, Kensler TW, Sporn MB, Reddy SP, Rabb H. The Nrf2 triterpenoid activator, CDDO-imidazolide, protects kidneys from ischemia-reperfusion injury in mice. *Kidney Int* 2014 ; 85 : 134–141.
 40. Wu QQ, Wang Y, Senitko M, Meyer C, Wigley WC, Ferguson DA, Grossman E, Chen J, Zhou XJ, Hartono J, Winterberg P, Chen B, Agarwal A, Lu CY. Bardoxolone methyl (BARD) ameliorates ischemic AKI and increases expression of protective genes Nrf2, PPAR γ , and HO-1. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011 ; 300 : F1180–1192.
 41. Kong X, Thimmulappa R, Craciun F, Harvey C, Singh A. Enhanc-

- ing Nrf2 pathway by disruption of Keap1 in myeloid leukocytes protects against sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2011 ; 184 : 928–938.
42. Aleksunes LM, Goedken MJ, Rockwell CE, Thomale J, Manautou JE, Klaassen CD. Transcriptional regulation of renal cytoprotective genes by Nrf2 and its potential use as a therapeutic target to mitigate cisplatin-induced nephrotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 2010 ; 335 : 2–12.
 43. Tanaka Y, Aleksunes LM, Goedken MJ, Chen C, Reisman SA, Manautou JE, Klaassen CD. Coordinated induction of Nrf2 target genes protects against iron nitrilotriacetate (FeNTA)-induced nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008 ; 231 : 364–373.
 44. Suzuki T, Taguchi K, Yamamoto M, Saito A, Shimizu A, Yokoo T, Matsusaka T, Miyata T, Hosoya T, Pastan I, Miyazaki Y, Naganuma E. Keap1 inhibition attenuates glomerulosclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 2014 ; 29 : 783–791.
 45. Wang Z, Shah SV, Liu H, Baliga R. Inhibition of cytochrome P450 2E1 and activation of transcription factor Nrf2 are renoprotective in myoglobinuric acute kidney injury. *Kidney Int* 2014 ; 86 : 338–349.
 46. Kim HJ, Vaziri ND. Contribution of impaired Nrf2-Keap1 pathway to oxidative stress and inflammation in chronic renal failure. *Am J Physiol Physiol* 2009 ; 298 : F662–671.
 47. Reisman SA, Chertow GM, Hebbbar S, Vaziri ND, Ward KW, Meyer CJ. Bardoxolone methyl decreases megalin and activates Nrf2 in the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2012 ; 23 : 1663–1673.
 48. Pergola PE, Krauth M, Huff JW, Ferguson DA, Ruiz S, Meyer CJ, Warnock DG. Effect of bardoxolone methyl on kidney function in patients with T2D and stage 3b-4 CKD. *Am J Nephrol* 2011 ; 33 : 469–476.
 49. Pergola PE, Raskin P, Toto RD, Meyer CJ, Huff JW, Grossman EB, Krauth M, Ruiz S, Audhya P, Christ-Schmidt H, Wittes J, Warnock DG. Bardoxolone methyl and kidney function in CKD with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2011 ; 365 : 327–336.
 50. de Zeeuw D, Akizawa T, Audhya P, Bakris GL, Chin M, Christ-Schmidt H, Goldsberry A, Houser M, Krauth M, Lambers Heerspink HJ, McMurray JJ, Meyer CJ, Parving HH, Remuzzi G, Toto RD, Vaziri ND, Wanner C, Wittes J, Wrolstad D, Chertow GM. Bardoxolone methyl in type 2 diabetes and stage 4 chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2013 ; 369 : 2492–2503.
 51. Chin MP, Wrolstad D, Bakris GL, Chertow GM, De Zeeuw D, Goldsberry A, Linde PG, McCullough PA, McMurray JJ, Wittes J, Meyer CJ. Risk factors for heart failure in patients with type 2 diabetes mellitus and stage 4 chronic kidney disease treated with bardoxolone methyl. *J Card Fail* 2014 ; 20 : 953–958.
 52. Nangaku M, Shimazaki R, Akizawa T. Bardoxolone methyl improved GFR measured by standard inulin clearance : the TSUBAKI study. *J Am Soc Nephrol* 2017 ; 28 : SA-OR122.
 53. Matsushita K, Chen J, Sang Y, Ballew SH, Shimazaki R, Fukagawa M, Imai E, Coresh J, Hishida A. Risk of end-stage renal disease in Japanese patients with chronic kidney disease increases proportionately to decline in estimated glomerular filtration rate. *Kidney Int* 2016 ; 90 : 1109–1114.
 54. Suzuki Y, Iwano M, Furuichi K, Ninomiya T, Kusano E, Araki S, Babazono T, Nakamura H, Hara S, Haneda M, Satoh H, Toyama T, Makino H, Moriya T, Shimizu M, Hara A, Yokoyama H, Wada T, Iseki K. Clinical impact of albuminuria and glomerular filtration rate on renal and cardiovascular events, and all-cause mortality in Japanese patients with type 2 diabetes. *Clin Exp Nephrol* 2013 ; 18 : 613–620.
 55. Chin MP, Bakris GL, Block GA, Chertow GM, Goldsberry A, Inker LA, Heerspink HJL, O'Grady M, Pergola PE, Wanner C, Warnock DG, Meyer CJ. Bardoxolone methyl improves kidney function in patients with chronic kidney disease stage 4 and type 2 diabetes : post-hoc analyses from bardoxolone methyl evaluation in patients with chronic kidney disease and type 2 diabetes study. *Am J Nephrol* 2018 ; 47 : 40–47.