

東北医科薬科大学

審査学位論文（博士）要旨

氏名（本籍）	ニッタ 効ヒロ 新田 昂大（岩手県）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	博薬学第8号
学位授与の日付	平成31年3月8日
学位授与の要件	学位規則第4条1項該当
学位論文題名	糖尿病性腎症におけるグロボ系糖脂質の生理学的役割
論文審査委員	主査 教授 細野 雅祐
	副査 教授 井ノ口 仁一
	副査 教授 高橋 知子

糖尿病性腎症におけるグロボ系糖脂質の生理学的役割

東北医科薬科大学大学院薬学研究科

新田 昂大

糖尿病性腎症は、糖尿病の主要な合併症の一つであり、透析導入の主な原因疾患として問題となっている。糖尿病性腎症は、腎機能が一端低下・進行すると治療を行っても完全には回復せず、進行を遅らせることしかできない。したがって、早期発見と新規治療のための病態生理学的解析が重要となる。スフィンゴ糖脂質は、スフィンゴ脂質であるセラミドとグルコースやガラクトース、シアル酸などの糖で構成されている。セラミドは、スフィンゴシン塩基に脂肪酸(アシル基)がアミド結合で結合しており、多くの分子種が存在している。セラミド分子種の多様性は、アシル鎖長[長鎖脂肪酸(C16-20)と極長鎖脂肪酸(C22-26)]や修飾(2-水酸化・二重結合)が異なる脂肪酸によって、セラミドが構成されるため生じる。スフィンゴ糖脂質は、がん、糖尿病、神経変性疾患など、さまざまな疾患において病態生理学的役割を担っていることが知られている。しかし、糖尿病性腎症におけるスフィンゴ糖脂質の病態生理学的役割については、未だ不明である。本研究では、糖尿病性腎症におけるスフィンゴ糖脂質の病態生理学的な意義を明らかにするために、腎臓のスフィンゴ糖脂質を解析した。その結果、糖尿病モデルマウスや高脂肪食負荷マウス、ストレプトゾトシン誘導性1型糖尿病マウスの腎臓で発現変化するスフィンゴ糖脂質が異なることが判明した。食欲抑制に関与するレプチン受容体に変異した *db/db* マウスでは、グルコシルセラミドやラクシルセラミドの発現が増加することが報告されているが、本研究でグロボ系スフィンゴ糖脂質(Gb3Cer)の発現が、コントロールマウスと比較して低いことを見いだした。糖尿病は複数の遺伝因子と環境因子の両方が発症に関与することから、糖尿病発症に複数の疾患感受性遺伝子が関与

する KK マウスに高脂肪食負荷することで、スフィンゴ糖脂質の病態生理学的意義を検討した。腎臓のスフィンゴ糖脂質発現を解析した結果、*db/db* マウスとは対照的にグロボ系スフィンゴ糖脂質が発現増加していた。*db/db* と KK マウスの腎臓で、発現変化するスフィンゴ糖脂質が対照的な理由を明らかにするために、レプチン遺伝子に変異した *ob/ob* 及びストレプトゾトシン誘導性 1 型糖尿病マウスの解析を行った。*ob/ob* マウスは、*db/db* マウスと類似の発現変化パターンを示し、*ob/ob* マウスへのレプチン投与は腎 Gb3Cer の発現量を、コントロールマウスと同レベルまで回復させた。興味深いことに、ストレプトゾトシン誘導性 1 型糖尿病マウスも、*ob/ob*, *db/db* マウスと同様に腎 Gb3Cer の発現が低下していた。ストレプトゾトシン誘導性糖尿病マウスは、インスリンの欠乏によりレプチンが合成・分泌される脂肪組織の激減、それに伴う低レプチン血症を呈する。また、KK マウスの場合、過食や高脂肪食負荷の結果、脂肪組織が肥大し高レプチン血症を呈する。これらの事実を踏まえると、上記の結果は、レプチンが腎臓のグロボ系糖脂質の発現に関与していることを示唆している。

最近の研究では、スフィンゴ糖脂質の構成脂肪酸が異なる分子種が、生理活性に大きな影響を与えることが示されつつある。したがって、糖尿病性腎症に関連して発現変化するスフィンゴ糖脂質の分子種を解析することは、病態生理学的に重要である。本研究では、高脂肪食を 8 週間負荷した KK マウスの腎臓で、増加が確認されたグロボ系糖脂質の分子種解析を、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計を用いて行った。その結果、飽和の極長鎖分子種 (C22, C23, C24) が特に増加していた。糖尿病抵抗性の C3H/HeN マウスの腎臓では、KK マウスの腎臓で発現の低い 2-水酸化脂肪酸が結合した分子種が高発現していた。上記の結果より、グロボ系糖脂質の病態形成への関与が示唆されることから、糖尿病性腎症の病態形成に重要な炎症反応における、グロボ系糖脂質の炎症惹

起活性の有無をヒト単球やマウス骨髄由来マクロファージを用いて評価した。その結果、極長鎖グロボ系糖脂質は、Toll-like receptor 4 (TLR4) リガンド (LPS, HMGB1) の存在下、TLR4 選択的なポジティブモジュレーターとして炎症促進活性を持つことが示唆された (Fig. 1)。

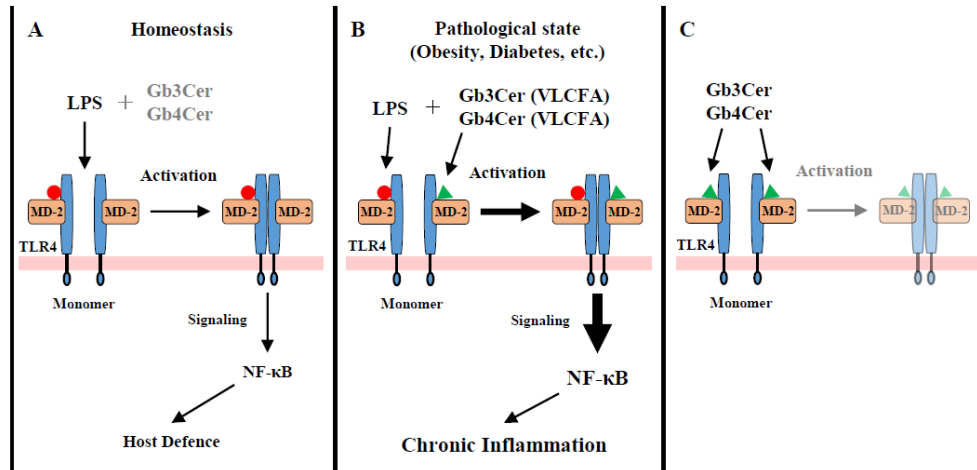


Fig. 1. Working hypothesis for the action of Gb3Cer and Gb4Cer on TLR4 signaling.

高血糖状態の慢性な持続により、終末糖化産物 (AGEs) の産生や酸化ストレスが誘起され、腎臓への活性化マクロファージの浸潤やメサングウム細胞の TLR4 発現が上昇する。加えて、糖尿病では LPS や HMGB1 などの血中濃度も上昇することから、腎臓は炎症が惹起されやすい状態に陥っている。レプチンは視床下部に作用し食欲抑制やエネルギー消費亢進に関わるだけでなく、免疫細胞に作用することで炎症性サイトカインの分泌を促進し、炎症反応に関与する。炎症性サイトカインは、腎糸球体細胞のグロボ系糖脂質の発現を増加させる。したがって、高脂肪食負荷により肥大した脂肪組織から分泌促進されたレプチンが、腎臓のグロボ系糖脂質の発現を増加させ、増加したグロボ系糖脂質が、TLR4 リガンド存在下、TLR4 に作用することで炎症反応を促進し、糖尿病性腎症の病態形成に関与していることが本研究より示唆される。レプチンによる腎臓のグロボ系糖脂質の発現変化メカニズムのさらなる解明により、糖尿病性腎症の新たな

な診断法や治療薬開発の進展につながる事が予想される。

<参考文献>

Globo-series glycosphingolipids enhance Toll-like receptor 4-mediated inflammation and play a pathophysiological role in diabetic nephropathy

Takahiro Nitta, Hirotaka Kanoh, Kei-ichiro Inamori, Akemi Suzuki, Tomoko Takahashi, and Jin-ichi Inokuchi

Glycobiology, cwy105, <https://doi.org/10.1093/glycob/cwy105>, advance online publication.