

Title	Increase of Total Nephron Albumin Filtration and Reabsorption in Diabetic Nephropathy(Abstract_要旨)
Author(s)	Mori, Keita
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2017-03-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k20263
Right	10.1681/ASN.2015101168
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（医学）	氏名	森 慶 太
論文題目	Increase of Total Nephron Albumin Filtration and Reabsorption in Diabetic Nephropathy (糖尿病性腎症におけるアルブミンの全ネフロン濾過量および再吸収量の増加に関する研究)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>アルブミン(Alb)尿は、慢性腎臓病の診断および予後予測において最も重要なバイオマーカーである。Alb の尿排泄量は、糸球体での濾過量と尿細管再吸収量で決定されるが、糖尿病性腎症において、これらがどのように変化して Alb 尿を呈するのかについては未だ結論が出ていない。マイクロパンクチャー法や二光子顕微鏡を用いた検討では、糖尿病ラットの腎表層の糸球体において Alb の濾過量は変化せず、近位尿細管(PT)での再吸収が低下したとする報告がなされているが、腎全体での変化は未知である。PT の管腔側には、膜蛋白の megalin、cubilin が発現し、複合体として管腔内の種々の濾過蛋白を効率よく再吸収している。PT での蛋白再吸収には megalin の存在が必須である。</p> <p>今回、megalin-floxed マウスと Ndr1-CreER^{T2} マウスを交配し、任意の時期にタモキシフェン(Tam)投与により PT での megalin 発現を欠失できる iMegKO マウスを作出した。iMegKO マウスに低用量 Tam を投与すると、腎全体の megalin の mRNA、蛋白発現はいずれも 30%に低下し、皮質 PT での megalin 発現が選択的に抑制されたが、髄質 PT での発現が残存した。高用量 Tam では腎全体の megalin 発現が 8%にまで低下し、皮質・髄質両方の PT において発現が抑制された。また低用量・高用量 Tam 投与により、コントロールに比較し尿 Alb 排泄量が 16 倍に増加し、両者間に有意差を認めなかったため、Alb 再吸収に関しては皮質 PT が主要な役割を果たしていると考えられた。次に、ストレプトゾトシン(STZ)を先行投与して糖尿病を誘導し、8 週後に低用量 Tam 投与を行った。糖尿病状態では、随時血糖値が著明に上昇し、クレアチニンクリアランスが 1.5 倍に、尿 Alb 排泄量が 7 倍に増加した。Tam 投与後の尿 Alb 排泄量は全ネフロン Alb 濾過量を、Tam 投与後から投与前の排泄量を減じた値は全ネフロン Alb 再吸収量を意味すると考えられるが、糖尿病状態では、Alb 濾過量は 1.9 倍に、Alb 再吸収量は 1.8 倍にいずれも増加していた。これらの変化はインスリン投与により、随時血糖値と共に正常化した。電子顕微鏡所見では、PT におけるエンドソームやライソソームなどのエンドサイトーシスに関連する細胞内小器官が、糖尿病で増加していた。また、別の糖尿病モデルである Akita マウスと iMegKO マウスの交配においても同様の結果が得られ、STZ の腎毒性による結果ではないことが確認された。最後に、iMegKO マウスの血清、尿検体を用い、糸球体バリアの蛋白通過性の指標である糸球体ふるい係数(GSC)を計算した。非糖尿病時の Alb の GSC は 1.7×10^{-5} と極めて低値であり、糖尿病発症後に 2.2 倍に増加した。</p> <p>以上より、糖尿病性腎症早期の Alb 尿増加の原因は糸球体の蛋白通過性亢進であり、尿細管再吸収はむしろ代償的に増加していること、これらの変化は高血糖もしくはインスリン枯渇により生じていることを解明した。これまで疫学的な研究により、早期糖尿病性腎症の診療において、高血糖の是正および降圧薬を用いた糸球体過剰濾過の是正を積極的に目指すことが推奨されてきたが、その理論的な根拠を明らかにした。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

慢性腎臓病において最も重要なバイオマーカーである尿アルブミン(Alb)排泄量は全ネフロンでの濾過量と尿細管再吸収量で決定されるが、糖尿病性腎症において、これらがどのように変化して Alb 尿を呈するのかについては未だ結論が出ていない。そこで、成獣マウスの Alb 尿細管再吸収量をほぼ完全に抑制できる *megalin(lox/lox);Ndr1-CreER^{T2}* (iMegKO)マウスを交配・作出し、糖尿病を誘導して Alb 動態解析に関する研究が行われた。

iMegKO マウスにタモキシフェン(Tam)を投与すると、皮質・髄質すべての尿細管でほぼ完全に megalin 発現が抑制され、尿 Alb 排泄量が 16 倍に増加した(全ネフロン濾過量)。また、Tam 投与後の尿 Alb 排泄量から投与前のそれを減じると全ネフロン再吸収量が算出された。iMegKO マウスにストレプトゾトシンにて糖尿病を誘導した 8 週後に Tam を投与したところ、全ネフロン濾過量は 1.9 倍に、再吸収量は 1.8 倍にいずれも有意に増加した。これらの変化は、インスリンの投与により随時血糖と共に正常化した。1 型糖尿病モデルである Akita マウスとの交配によって得られた Akita:iMegKO マウスにおいても同様の結果が得られた。よって、糖尿病性腎症早期の尿 Alb 排泄量増加の原因は全ネフロン Alb 濾過量の増加であることが証明された。

以上の研究は、早期糖尿病性腎症を特徴づける微量アルブミン尿の発症機構解明に貢献し、病態に即した治療法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 2 月 13 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。