

氏名・(本籍)	大友 瞳 (秋田県)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第 1035 号
学位授与の日付	令和 3 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	<b>Sodium-glucose cotransporter 2 inhibition attenuates protein overload in renal proximal tubule via suppression of megalin O-GlcNacylation in progressive diabetic nephropathy</b>  (SGLT2 阻害は進行性糖尿病性腎症におけるメガリンの O-GlcNAc 化の抑制を介して近位尿細管での蛋白過剰負荷を軽減する)
論文審査委員	(主査) 八月朔日 泰和 教授 (副査) 中永 士師明 教授          河谷 正仁 教授

## 学位論文内容要旨

Sodium-glucose cotransporter 2 inhibition attenuates protein overload in renal proximal tubule via suppression of megalin O-GlcNAcylation in progressive diabetic nephropathy

(SGLT2 阻害は進行性糖尿病性腎症におけるメガリンの O-GlcNAc 化の抑制を介して近位尿細管での蛋白過剰負荷を軽減する)

申請者氏名 大友 瞳

### 研究目的

糖尿病性腎症の病因における最近の研究にて、尿細管間質病変が腎機能低下と密接に関連していることが明らかになっている。糖尿病の腎臓では、障害を受けた糸球体からアルブミンを含む過剰な血漿蛋白が濾過され、そのほとんどが近位尿細管上皮細胞刷子縁膜に豊富に局在するエンドサイトーシス受容体のメガリン、キュビリンから再吸収されるため、近位尿細管上皮細胞では蛋白の過剰負荷状態が発生する。これまでの研究において、過剰な蛋白負荷が近位尿細管細胞のアポトーシス、酸化ストレス、炎症、尿細管間質の線維化を引き起こすことが明らかにされている。

Sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) 阻害薬は、近位尿細管でのグルコース再吸収を阻害し、尿糖を増加させ、血糖値を低下させる新しい糖尿病薬であり、SGLT2 阻害薬の大規模臨床試験である EMPA-REG OUTCOME、CANVAS Program、CREDESCENCE Trial、DECLARE-TIMI 58 において、心血管保護に加え、腎症の発症進展の抑制が報告されているが、その詳細な分子メカニズムは依然として十分に解明されていない。糖尿病状態下では SGLT2 を介した近位尿細管でのグルコース再吸収は増加しており、その細胞内へ流入したグルコースがヘキソサミン生合成経路 (HBP) を活性化し、細胞内タンパク質の O 結合型  $\beta$ -N-アセチルグルコサミン修飾 (O-GlcNAcylation) が増加すること、また O-GlcNAcylation はタンパク質間の相互作用の調整や細胞内局在を調節することが報告されている。

しかしながら、ともに近位尿細管の S1 および S2 セグメントに局在して発現している SGLT2 とメガリンの糖尿病状態下での詳細なクロストークについては不明である。このような背景から、SGLT2 阻害がメガリンの O-GlcNAcylation の抑制とそれに続くメガリンエンドサイトーシス機能の変化を介して、進行性糖尿病性腎症における近位尿細管細胞の蛋白過剰負荷を軽減し、腎保護に寄与する可能性について検討した。

### 研究方法

非肥満型インスリン欠乏型糖尿病マウスモデルであり、進行性糖尿病性腎症を発症するオス KK/Ta-Ins2Akita (KK/Ta-Akita) マウスに対して、8 週齢より 6 週間 SGLT2 阻害薬イプラグリフロジンまたはインスリンの投与を行い、組織学および生化学マーカーを含む腎病変への影響や近位尿細管での蛋白再吸収機能、メガリンの腎での発現や O-GlcNAcylation について解析を行った。

### 研究成績

イプラグリフロジン群とインスリン群の空腹時血糖値と HbA1c は同程度に低下させたが、イプラグリフロジン群では糸球体高血圧の改善を反映する GFR の低下が観察された。アルブミン尿を治療前後で比較すると、コントロール群では週齢に伴う増加がみられたが、イプラグリフロジン群ではアルブミン尿の進行が抑制され、インスリン群では減少を認めた。イプラグリフロジン群ではメガリンの O-GlcNAcylation を減少させることでその内在化を加速させ、それに伴うメガリンのエンドサイトーシス機能の抑制から、アルブミンや低分子量蛋白の NGAL などの腎糸球体から過剰に濾過された血漿蛋白の近位尿細管での再吸収を減少させた。同程度に血糖降下させたにも関わらず、インスリン群ではこのような所見はみられなかった。イプラグリフロジン群では、こうした近位尿細管における蛋白過剰負荷の軽減に伴い、近位尿細管上皮細胞内ミトコンドリアの形態異常の抑制、腎臓内酸化ストレスの減少、尿細管間質線維化の改善を認めた。

### 結論

本研究は、SGLT2 阻害がメガリンの O-GlcNAcylation を抑制し、それに続くメガリンの内在化およびエンドサイトーシス機能抑制を通じて、進行性糖尿病性腎症における近位尿細管での蛋白過剰負荷の改善をもたらすことを明らかにした。また、このような変化に伴い、近位尿細管のミトコンドリアの形態、腎臓内酸化ストレスおよび尿細管間質線維化の改善に寄与することを示した。本研究により、糖尿病性腎症における SGLT2 阻害の潜在的な腎保護効果の根底にある SGLT2 阻害とメガリンの間のクロストークメカニズムが世界で初めて解明された。

# 学位（博士一甲）論文審査結果の要旨

主 査：八月朔日 泰和

申請者：大友 瞳

論文題名：

Sodium-glucose cotransporter 2 inhibition attenuates protein overload in renal proximal tubule via suppression of megalin O-GlcNAcylation in progressive diabetic nephropathy

(SGLT2 阻害は進行性糖尿病性腎症におけるメガリンの O-GlcNAc 化の抑制を介して近位尿細管での蛋白過剰負荷を軽減する)

要旨

著者の研究は論文内容要旨に示すように、非肥満型インスリン欠乏型糖尿病マウスモデルであり進行性糖尿病性腎症を発症する KK/Ta-Akita マウスに対して、SGLT2 阻害薬のイプラグリフロジン投与を行い、SGLT2 阻害がメガリンの O-GlcNAcylation の抑制とそれに続くメガリンエンドサイトーシス機能の変化を介して、進行性糖尿病性腎症における近位尿細管細胞の蛋白過剰負荷を軽減し、腎保護に寄与する可能性について検討したものである。

これまで SGLT2 阻害薬の大規模臨床試験において糖尿病性腎症の発症進展の抑制が報告されているが、その詳細な分子メカニズムは依然として十分に解明されておらず、著者らは世界で初めて SGLT2 阻害がメガリンの O-GlcNAcylation を抑制し、それに続くメガリンの内在化およびエンドサイトーシス機能抑制を通じて、進行性糖尿病性腎症における近位尿細管での蛋白過剰負荷の改善をもたらすことを明らかにした。また、近位尿細管での蛋白過剰負荷の改善が、近位尿細管のミトコンドリアの形態、腎臓内酸化ストレスおよび尿細管間質線維化の改善に寄与することも示した。

本論文の斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明瞭さは以下の通りである。

## 1) 斬新さ

これまで SGLT2 阻害薬の大規模臨床試験において糖尿病性腎症の発症進展の抑制が報告されているが、その詳細な分子メカニズムは依然として十分に解明されていなかった。また、SGLT2 阻害がメガリンの O-GlcNAcylation を抑制することによる腎保護メカニズムはこれまで報告されておらず、著者らによる本研究は、世界で初めて糖尿病性腎症における SGLT2 阻害の潜在的な腎保護効果の根底にある SGLT2 阻害とメガリンの間のクロストークメカニズムを解明したものであり、斬新性が認められる。

## 2) 重要性

我が国においては糖尿病患者の増加、また高齢化の影響により、合併症の一つである糖尿病性腎症の増加が進んでおり、糖尿病性腎症の発症進展抑制の重要性が高まっている。そのため、SGLT2 阻害薬による腎保護効果のメカニズムの解明を行った本研究は腎障害の回避において臨床的に非常に重要である。

## 3) 実験方法の正確性

本研究のすべてのデータは適切な統計学的手法を取り入れて複数回の実験から得られており、実験方法は客観的で正確性があると考えられる。形態解析にも統計学的手法を取り入れ、より客観性および正確性が認められる。

## 4) 表現の明瞭さ

本研究は英文で糖尿病・代謝領域の国際医学誌である Metabolism に受理・掲載されており、研究目的、方法、評価項目、統計手法、得られた結果、考察が明瞭に記載されている。

以上述べたように、本論文は学位を授与するに十分値する研究と判定された。