

2021 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	走運動による筋腎連関を介した腎臓病の進行抑制 メカニズムの解明 －BDNF-TrkB 系を介した腎保護の可能性－
キーワード	①走運動、②筋腎連関、③マイオカイン (BDNF)

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	イノウエ カズホ 井上 一步
配付時の所属先・職位等 (令和3年4月1日現在)	聖マリアンナ医科大学 医学部 解剖学 助教
現在の所属先・職位等 (令和4年7月1日現在)	聖マリアンナ医科大学 医学部 解剖学 助教
プロフィール	2011-2012 年度 日本獣医生命科学大学大学院修士課程 (応用生命科学) ウシ舌における味覚受容体 T1Rs ファミリーの mRNA の塩基配列を決定し、in situ hybridization 法にて舌における局在を明らかにし、修士 (応用生命科学) を取得した。 2013-2017 年度 聖マリアンナ医科大学解剖学 (機能組織) 研究技術員 ヒトを含めた哺乳類の様々な臓器を使用し、適正な組織標本作成法の確立に従事した。 2017 年度～現在 聖マリアンナ医科大学解剖学 (機能組織) 助教 腎臓病における運動の有用性およびそのメカニズムの解明や急性腎障害の新規治療法の確立を目指している。

1. 研究の概要

糖尿病に起因する慢性腎臓病 (糖尿病性腎臓病: DKD) は、血液透析導入原因疾患の第 1 位であり、現在も DKD による透析導入患者数は高いレベルを維持し続けている。このため、患者の福祉向上に加え、医療経済的観点から、DKD の発症予防/進行抑制は喫緊の課題として、様々な試みがなされているが、未だ十分とは言えない。

最近、骨格筋と腎臓の連関 (筋腎連関) が注目され、様々な施設で研究がおこなわれている。骨格筋を遺伝子工学的に肥大させることで産生された骨格筋由来の液性因子 (マイオカイン) が、腎循環を改善し進行性の慢性腎障害を抑制すること (*J Am Soc Nephrol*, 2014;25:2800-2811) やマウス慢性腎臓病モデルにおいて、習慣的有酸素運動が腎組織障害を軽減すること (*Hypertension Res*, 2019 ;42:1518-152) が報告されていることから、DKD においても、習慣的有酸素運動による腎保護作用が認められる可能性がある。さらに、骨格筋から分泌される脳由来神経栄養因子 {Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)} が腎細胞に発現する BDNF の受容体 {トロポミオシン関連チロシンキナーゼ B (tropomyosin receptor kinase B receptor; TrkB)} を介して、腎保護的に作用したことが報告されていることから (*J Pathol*, 2015; 235: 731-744)、本研究では、ヒトの病態に近い肥満 2 型糖尿病ラット (SDT fatty rat) を使用し、習慣的有酸素運動 (8 週間のトレッドミル運動、4 日/週、30 分間) が DKD の進行を抑制し、その機序に BDNF-

TrkB 系の活性化が関与するか否かを検討した。その結果、トレッドミル運動により DKD の進行は抑制され、筋力低下の抑制と速筋を主体とする長趾伸筋の肥大が認められた。しかし、長趾伸筋において、BDNF の発現は増加せず、血中 BDNF 濃度は運動によりむしろ低下傾向であった。今後は、骨格筋のマルチミックス解析を行い、2 型糖尿病における筋腎連関にかかわるマイオカインの同定をめざす。

2. 研究の動機、目的

糖尿病に起因する慢性腎臓病（糖尿病性腎臓病：DKD）は、多くの血糖降下薬が開発されているにも関わらず、20 年近く血液透析導入原因疾患の第 1 位であり、現在も高いレベルを維持し続けている（日本透析医学会統計）。このため、患者の福祉向上に加え、医療経済的観点から、DKD の発症予防および進行抑制は喫緊の課題である。

DKD は、高血糖に加え、肥満、高血圧、高脂血症など、様々な生活習慣病により影響されるため、多面的治療が必要となり、DKD 発症予防および進行抑制を難しくさせている。さらに、糖尿病患者の多くが、動脈硬化が強い身体・認知機能が低下した高齢者であり、積極的な治療が、合併症や副作用をもたらし、患者の不利益となることも問題である。このことは、薬剤に依存せず、患者の生活の質(QOL)や日常生活動作 (ALD) を考慮した DKD 対策が重要であることを示している。

最近、骨格筋と腎臓の連関（筋腎連関）が注目され、様々な施設で研究がおこなわれている。骨格筋を遺伝子工学的に肥大させることで産生された骨格筋由来の液性因子（マイオカイン）が、腎循環を改善し進行性の慢性腎臓病を抑制すること（*J Am Soc Nephrol*, 2014;25:2800-2811）やマウスを使用した慢性腎臓病モデルにおいて、習慣的有酸素運動が腎組織障害を軽減すること（*Hypertension Res*, 2019 ;42:1518-152）が報告されていることから、DKD においても、習慣的有酸素運動による腎保護作用が認められる可能性がある。さらに、骨格筋から分泌される脳由来神経栄養因子 {Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)} が腎細胞に発現する BDNF の受容体 {トロポミオシン関連チロシンキナーゼ B (tropomyosin receptor kinase B receptor; TrkB)} を介して、腎保護的に作用したことが報告されていることから（*J Pathol*, 2015; 235: 731-744）、本研究では、ヒトの病態に近い肥満 2 型糖尿病ラット（SDT fatty rat）を使用し、習慣的有酸素運動が DKD の進行を抑制し、その機序に BDNF-TrkB 系の活性化が関与することを明らかにする事を目指した。

3. 研究の結果

雄 SDT fatty rat（SDT、12 匹）とコントロールとして雄 Sprague-Dawley (SD) rat (SD、10 匹) を使用した。8 週齢で SDT を非運動群（6 匹）、運動群（6 匹）、SD を非運動群（5 匹）、運動群（5 匹）にそれぞれ割り付けた。運動群には、トレッドミルを使用した走運動（週 4 日、30 分間）を 8 週齢から 16 週齢まで継続した。

SDT、SD 両ラットとも、週齢が進むにつれ体重は有意に増加し、SDT では、高血糖が維持された。SDT では、運動群と非運動群で体重、血糖は同程度であった。収縮期血圧は、SDT の運動群では、SDT の非運動群と比べ、16 週齢で有意に低値であった。16 週齢の血液生化学所見では、血清総コレステロールが、SDT の運動群では、SDT の非運動群と比べ、有意に低値であった。尿生化学所見では、糸球体障害指標の尿アルブミンと尿細管障害指標の尿 L-type fatty acid-binding protein (L-FABP) は、SDT の運動群では、SDT の非運動群に対し、尿アルブミンは 12、16 週齢で、尿 L-FABP は 16 週齢で有意に低値であった。腎臓の組織学的評価では、SDT の運動群で、SDT の非運動群と比べ、糸球体肥大・コラーゲン type IV 沈着、尿細管障害、間質へのマクロファージ浸潤・コラーゲン type III 沈着が有意に軽減された。糸球体蛋白の Western blot 解析では、SDT の運動群で、SDT の非運動群と比較し、糸球体内皮細胞の機能指標である endothelial nitric oxide synthase (eNOS) 発現が有意に高値であった。一方で、血管新生因子である vascular endothelial growth factor の発現は、群間で有意差を認めなかった。また、腎蛋白の Western blot 解析では、SDT の運動群で、SDT の非運動群と比較し、腎脂肪酸代謝指標である Medium-Chain Acyl-Coenzyme A Dehydrogenase Deficiency (MCAD) や Peroxisome proliferator-

activated receptor γ coactivator-1 α (PGC-1 α) の発現が有意に高値であった。

筋力は、16 週齢で、SDT の運動群は、非運動群より有意に高値であった。ヒラメ筋の Type I 筋線維の横断面積は、SDT の運動群と非運動群で有意差がなかったが、長趾伸筋の Type IIb 筋線維の横断面積は、SDT の運動群は、非運動群より有意に高値であった。長趾伸筋の BDNF 遺伝子発現 (real-time PCR) および血液中 BDNF (ELISA) を検討した結果、SDT の運動群と非運動群で有意差を認めなかったことから、運動による腎保護的作用のメカニズムとして、BDNF の関与を示すことができなかった (Table 1、Figure 1)。

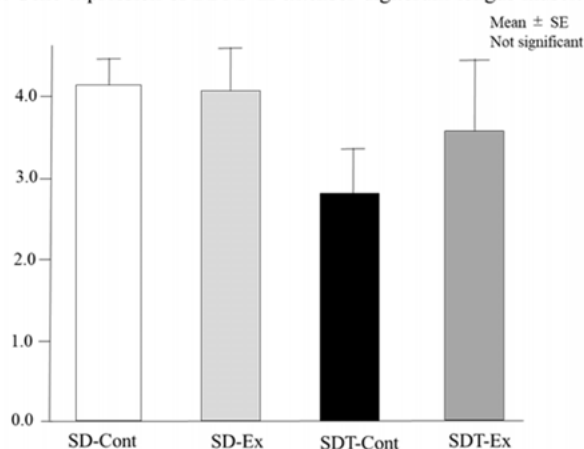
Table 1 Serum BDNF at 16 weeks of age

Variable	SD-Cont	SD-Ex	SDT-Cont	SDT-Ex
BDNF (ng/ml)	11.61 (0.61)	11.57 (1.41)	28.03 (1.15)** ##	25.41 (1.81)** ##

All data were expressed as the mean (SEM).

** $P < 0.01$ versus the SD-Cont group; ## $P < 0.01$ versus the SD-Ex group

Figure 1. Gene expression of BDNF in extensor digitorum longus muscle



4. 研究者としてのこれからの展望

本研究では、SDTにおいて、習慣的走運動が、血糖非依存的に、高血圧、高脂血症を軽減し、腎機能低下の抑制、尿アルブミンおよびL-FABPを低下させるとともに、糸球体・尿細管間質障害を抑制したことが示された。習慣的走運動による腎障害の抑制メカニズムとして、SDTの運動群で、糸球体蛋白のeNOS発現、腎臓蛋白のMCAD、PGC-1 α 発現が増加したことから、運動が、糸球体血管内皮細胞の機能異常を抑制し、腎臓での脂質代謝を改善することで、腎障害の軽減に作用したと考えられた。さらに、習慣的走運動は、SDTにおいて筋力およびType IIb筋線維を増加させた。しかし、習慣的走運動のDKD進行抑制作用にBDNF-TrkB系活性化が関与することは示されなかった。今後は、骨格筋のマルチミックス解析を行い、2型糖尿病における筋腎連関にかかわるマイオカインの同定をめざす。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

この度は、貴重な研究助成をいただき、心より感謝申し上げます。残念ながら、運動による腎臓への好影響に対する BDNF-TrkB 系の関与を示すことができませんでしたが、今回いただくことができた研究助成を無駄にしないためにも、筋腎連関の解明を継続して行い、患者の福祉向上を目指し研究を行っていく所存です。