

## Banyu Foundation Research Grant 2013—生活習慣病領域—

## 研究成果報告書(最終) &lt;概要&gt;

所 属	岡山大学病院 腎臓・糖尿病・内分泌内科
氏 名	中司 敦子
研究テーマ	糖尿病細小血管障害における vaspin の意義

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

## 本研究の目的

小胞体ストレス応答は慢性炎症を惹起しインスリン抵抗性や糖尿病の発症の一因になることが知られている。本研究ではバスピンが小胞体ストレスを軽減し、糖尿病性腎症の進展を抑制すること、またその作用機序を明らかにする。バスピン トランスジェニック(Tg)・ノックアウト(KO)、野生型マウスを用いて糖尿病性腎症モデル、薬剤で小胞体ストレスを誘導したモデルを作製し、腎臓の組織学的評価や小胞体ストレスの変化などについて検討する。さらに尿細管細胞や糸球体上皮細胞・メサンギウム細胞など培養細胞を用いて、バスピンによるシグナル伝達をはじめとする作用分子メカニズムについて解明する。

## 方法と結果

1. ストレプトゾトシン(STZ)誘発糖尿病モデルについての検討  
Tg マウスでは、尿細管の菲薄化、尿細管腔の拡大や、間質線維化が抑制された。逆に KO マウスでは、これらが増悪した。尿細管細胞のアポトーシスは Tg マウスで抑制され、KO マウスで増強した。
2. 高脂肪高蔗糖(HFHS)食による肥満・2糖尿病モデルについての検討  
6 週齢から HFHS 食飼育で 30 週齢まで飼育したマウスの腎組織では、KO マウスの近位尿細管に著しい空胞形成を認めた。一方、Tg マウスでは、この変化が野生型マウスと比べて抑制されていた。小胞体ストレスに関して eIF2 $\alpha$  リン酸化は STZ 投与野生型マウスと比べて Tg マウスでは抑制され、KO マウスでは増強した。また尿細管細胞のアポトーシスは Tg マウスで抑制され、KO マウスで増強した。
3. 小胞体ストレス誘導モデルについての検討  
既報に準じて tunicamycin (1 mg/g・BW)もしくはコントロール sucrose を腹腔内投与し、3 日後に腎臓を採取した。Tunicamycin 投与時の尿細管細胞の空胞変性は、KO マウスで増強し、Tg マウスで軽減した。1 や 2 と同様に、尿細管の TUNEL 陽性細胞は Tg マウスで減少し、KO マウスで増強した。
4. 腎臓におけるバスピンの存在部位  
T マウス, KO マウス腎臓、またリコンビナントバスピン蛋白を KO マウスに投与して 30 分後に採取した腎臓を用いたウエスタンブロットにおいて、腎臓にバスピンの存在を確認した。腎組織の免疫染色では、バスピンは近位尿細管に存在し、また細胞内に取り込まれて存在している可能性が示唆された。
5. 近位尿細管培養細胞(HK2 細胞)を用いた検討  
Tunicamycin で誘導される GRP78 や CHOP の発現亢進は、リコンビナントバスピン蛋白添加により抑制された。またアポトーシス誘導分子の発現も抑制された。

## 考察

バスピンは近位尿細管に取り込まれ、糖尿病性腎症における小胞体ストレスやアポトーシスを軽減し、細胞保護的に作用している可能性が示唆された。

## Banyu Foundation Research Grant 2013—生活習慣病領域—

## 研究成果報告書(最終) &lt;発表実績/予定一覧&gt;

所 属	岡山大学病院 腎臓・糖尿病・内分泌内科
氏 名	中司 敦子

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。</li> <li>掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。</li> <li>国内外雑誌を問わない。</li> <li>印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。</li> <li>欄が足りない場合は、増やして記入すること。とら</li> </ul>
1	Wang Y, Katayama A, Terami T, Han X, Nunoue T, Zhang D, Teshigawara S, Eguchi J, <u>Nakatsuka A</u> , Murakami K, Ogawa D, Furuta Y, Makino H, Wada J. Translocase of inner mitochondrial membrane 44 alters the mitochondrial fusion and fission dynamics and protects from type 2 diabetes. <i>Metabolism</i> . 64:677-88, 2015. 査読有
2	Higuchi C, <u>Nakatsuka A</u> , Eguchi J, Teshigawara S, Kanzaki M, Katayama A, Yamaguchi S, Takahashi N, Murakami K, Ogawa D, Sasaki S, Makino H, Wada J. Identification of circulating miR-101, miR-375 and miR-802 as biomarkers for type 2 diabetes. <i>Metabolism</i> .64:489-97, 2015. 査読有
3	Terami N, Ogawa D, Tachibana H, Hatanaka T, Wada J, <u>Nakatsuka A</u> , Eguchi J, Horiguchi CS, Nishii N, Yamada H, Takei K, Makino H. Long-term treatment with the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor, dapagliflozin, ameliorates glucose homeostasis and diabetic nephropathy in db/db mice. <i>PLoS One</i> . 9(6):e100777, 2014. 査読有
4	Watanabe M*, <u>Nakatsuka A*</u> , Murakami K, Inoue K, Terami T, Higuchi C, Katayama A, Teshigawara S, Eguchi J, Ogawa D, Watanabe E, Wada J, Makino H.(*; equal contribution). Pent deficiency ameliorates endoplasmic reticulum stress in diabetic nephropathy. <i>PLoS One</i> . 9(3):e92647, 2014. 査読有
5	Ogawa D, Eguchi J, Wada J, Terami N, Hatanaka T, Tachibana H, <u>Nakatsuka A</u> , Horiguchi CS, Nishii N, Makino H. Nuclear hormone receptor expression in mouse kidney and renal cell lines <i>PLoS One</i> . 9(1):e85594, 2014. 査読有
6	Miyatake N, Wada J, <u>Nakatsuka A</u> , Sakano N, Teshigawara S, Miyachi M, Tabata I, Numata T. Serum vaspin levels are associated with physical activity or physical fitness in Japanese: a pilot study. <i>Environ Health Prev Med</i> . 19(3):200-6, 2014. 査読有
7	Tachibana H, Ogawa D, Sogawa N, Asanuma M, Miyazaki I, Terami N, Hatanaka T, Horiguchi CS, <u>Nakatsuka A</u> , Eguchi J, Wada J, Yamada H, Takei K, Makino H. Metallothionein deficiency exacerbates diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic mice. <i>Am J Physiol Renal Physiol</i> . 306(1):F105-15, 2014. 査読有

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>・ 国内外を問わない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2015年10月3日	第36回日本肥満学会(中司敦子) 肥満関連腎症における vaspin の意義
2	2015年6月7日	American Diabetes Association's 75th Scientific Sessions. (Atsuko Nakatsuka) PEMT deficiency promotes steatohepatitis through sustained apoptosis via clathrin heavy chain-p53 mediated transcriptional mechanisms.
3	2015年5月23日	第2回肝臓と糖尿病・代謝研究会(中司敦子) メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT)が関与する脂肪肝炎と肝再生機構
4	2014年10月24日	第35回日本肥満学会(中司敦子) メタボリックシンドロームに伴う脂肪肝炎と Pemt の意義
5	2014年7月4日	第1回肝臓と糖尿病・代謝研究会(中司敦子) 脂肪肝炎における Pemt の意義
6	2014年5月24日	第57回日本糖尿病学会年次学術集会(中司敦子) メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT)の意義
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	投稿中	Atsuko Nakatsuka et al., Insufficiency of phosphatidylethanolamine N-methyltransferase is risk for lean non-alcoholic steatohepatitis
2		
3		
4		