

Banyu Foundation Research Grant 2012—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	金沢医科大学糖尿病内分泌内科学
氏 名	金崎啓造
研究テーマ	メタボリックシンドローム・妊娠高血圧腎症に共通の分子機構解明と新規治療戦略の開発

- ・ 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)

研究目的: 申請者は妊娠高血圧腎症の遺伝子改変モデル動物を初めて報告し、catechol-o-methyltransferase(COMT)不全を介したカテコール代謝異常がその原因であることを解明した (Nature 2008 Kanasaki et al)。妊娠高血圧腎症とメタボリックシンドロームは病態における類似点が多い。妊娠時インスリン抵抗性を有する症例は、血糖が正常でもその後妊娠高血圧腎症発症リスクが高い、また妊娠高血圧腎症症例においてはその後の人生における糖尿病発症リスクが2倍程度高い。低COMT酵素活性遺伝子多型と妊娠高血圧腎症、高血圧、糖代謝異常、急性冠症候群との関連も報告された。そこでCOMT不全がメタボリックシンドローム・妊娠高血圧腎症に共通の分子機構であると仮説し、COMT不全がメタボリックシンドロームの病態において演じる役割を網羅的に解析する事を試みた。

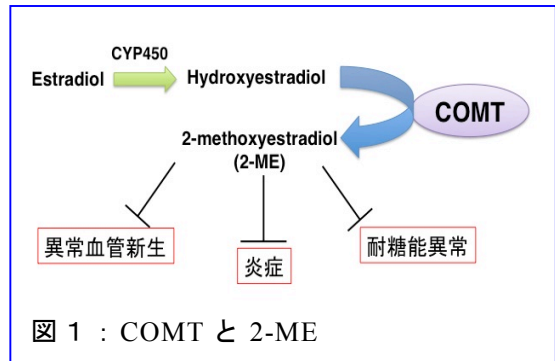


図1: COMTと2-ME

背景-根拠: 妊娠COMTノックアウトマウスは妊娠高血圧腎症様症状を呈する。その症状はCOMTを介したestradiolの代謝産物、2-methoxyestradiol(2-ME)投与により改善した。2-MEには抗炎症、抗異常血管新生、及び、耐糖能改善効果、膵β細胞保護効果も報告されている(図1)。

研究手法: メタボリックシンドロームモデル動物として高脂肪食(クイックファット: fat energy 32%) 投与C57Bl6マウスを用いた。COMT阻害薬(Ro41-0960)、COMT siRNA、metformin投与実験に関しては短期間プロトコル(2週間)を、2-ME慢性投与実験に関しては10週間高脂肪食投与を用い、2-MEの投与は最後の4週間のみ行った。膵臓β細胞からのインスリン分泌はマウスβ細胞ラインMIN6細胞を用いた。妊娠高血圧腎症は血管作動性物質に対する昇圧反応亢進状態である。そこで、アンジオテンシンII(AII)持続皮下注射に対する昇圧反応におけるCOMT不全および2-ME治療効果の検討も行った。

研究結果: 「COMT不全が妊娠高血圧腎症-メタボリックシンドロームに共通の病態である」という仮説に関して、次の結果を得ている----- ①高脂肪食投与(10週) C57Bl6マウスにおいて、COMT蛋白発現が有意に抑制。2-ME(高脂肪食投与6週後より4週間)は、耐糖能-脂肪肝を改善。②2-MEによる耐糖能改善効果は、肝臓AMPKリン酸化と関連。③metforminを投与すると肝臓COMT蛋白が増加。metformin投与による肝臓AMPKリン酸化はCOMT阻害薬投与により抑制。④COMT siRNA投与でも高脂肪食投与マウスの耐糖能が悪化。⑤2週間高脂肪食摂取マウスにおける2-MEによる血糖低下は、インスリン分泌増加と関連; 10週高脂肪食摂取に対する4週間2-ME慢性投与では血中インスリンレベルは低下し、インスリン抵抗性が改善。⑥MIN-6細胞を用いて行ったin vitro検討では、2-MEによりインスリン分泌量が増加。⑦妊娠マウスでは、肝臓COMT蛋白発現が低下。妊娠マウスに対するCOMT阻害薬投与によりインスリン抵抗性が増加、2-ME投与はインスリン抵抗性を改善する事によりCOMT阻害薬投与による耐糖能悪化を改善。⑧COMT阻害薬投与によりアンジオテンシンIIに対する昇圧感受性が亢進し、2-ME投与によりその昇圧反応は抑制。2-MEの前駆物質(2-hydroxyestradiol: COMTの基質)投与ではその効果は得られない。

考察: 上記結果からCOMTが様々な環境因子により発現が低下する蛋白である事、その是正が妊娠高血圧腎症-メタボリックシンドロームに共通の分子標的である可能性が示唆された。

Banyu Foundation Research Grant 2012—生活習慣病領域—
研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>

所	属	金沢医科大学糖尿病内分泌内科学
氏	名	金崎啓造

1. 論文発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 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。 ・ 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。 ・ 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。 ・ 国内外雑誌を問わない。 ・ 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。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
1		Srivastava, SP., Shi, S., Koya, D., <u>Kanasaki, K.</u> Lipid mediators in diabetic nephropathy <i>Fibrogenesis & Tissue Repair</i> 2014, 7:12 (3 September 2014) (査読あり)
2		Gao, C., Huang, W., <u>Kanasaki, K.</u> & Xu, Y. The role of ubiquitination and sumoylation in diabetic nephropathy. <i>BioMed research international</i> 2014, 160692 (2014). (査読あり)
3		Otoda, T., <u>Kanasaki, K.</u> & Koya, D. Low-protein diet for diabetic nephropathy. <i>Curr Diab Rep</i> 14, 523 (2014). (査読あり)
4		Nagai, T., Nitta, K., Kanasaki, M., Koya, D. & <u>Kanasaki, K.</u> The biological significance of angiotensin-converting enzyme inhibition to combat kidney fibrosis. <i>Clin Exp Nephrol</i> (2014). (査読あり)
5		Kitada, M., <u>Kanasaki, K.</u> & Koya, D. Clinical therapeutic strategies for early stage of diabetic kidney disease. <i>World journal of diabetes</i> 5, 342-356 (2014). (査読あり)
6		Sen, S., He, Y., Koya, D. & <u>Kanasaki, K.</u> Cancer biology in diabetes. <i>J Diabetes Investig</i> 5, 251-264 (2014). (査読あり)
7		Nagai, T., Kanasaki, M., Srivastava, S., Nakamura, Y., Ishigaki, Y., Kitada, M., Shi, S., <u>Kanasaki, K.</u> ^{##} , Koya, D. ^{##} . N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline inhibits diabetes-associated kidney fibrosis and endothelial-mesenchymal transition. <i>BioMed research international</i> 2014, 696475 (2014). (査読あり) ##corresponding
8		<u>Kanasaki, K.</u> , Nagai, T., Nitta, K., Kitada, M. & Koya, D. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline: a valuable endogenous anti-fibrotic peptide for combating kidney fibrosis in diabetes. <i>Frontiers in pharmacology</i> 5, 70 (2014). (査読あり)
9		<u>Kanasaki, K.</u> [*] , Ayala de la Peña, F. [*] , Kanasaki, M., Vong, S., Rovira, C., Kalluri, R., Specific activation of K-RasG12D allele in the bladder urothelium results in lung alveolar and vascular defects. <i>PLoS One</i> 9, e95888 (2014). (査読あり) *co-first author
10		Gohda, T., Mima, A., Moon, J.Y. & <u>Kanasaki, K.</u> Combat diabetic nephropathy: from pathogenesis to treatment. <i>Journal of diabetes research</i> 2014, 207140 (2014). (査読なし)
11		<u>Kanasaki, K.</u> ^{##} , Shi, S., Kanasaki, M., He, J., Nagai, T., Nakamura, Y., Ishigaki, Y., Kitada, M., Srivastava, S., Koya, D., Linagliptin-mediated DPP-4 inhibition ameliorates kidney fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice by inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition in a therapeutic regimen. <i>Diabetes</i> 63, 2120-2131 (2014). (査読あり)

12	Koya, D., Kitada, M., Kume, S. & <u>Kanasaki, K.</u> Interventions against nutrient-sensing pathways represent an emerging new therapeutic approach for diabetic nephropathy. <i>Clin Exp Nephrol</i> 18 , 210-213 (2014). (査読あり)
13	<u>Kanasaki, K.</u> ^{*,##} , Konishi, K. [*] , Hayashi, R., Shiroeda, H., Nomura, T., Nakagawa, A., Nagai, T., Takeda-Watanabe, A., Ito, H., Tsuda, T., Kitada, M., Fujii, M., Kanasaki, M., Nishizawa, M., Nakano, Y., Tomita, Y., Ueda, N., Kosaka, T., Koya, D., Three ileus cases associated with the use of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in diabetic patients. <i>J Diabetes Investig</i> 4 , 673-675 (2013). (査読あり) ##corresponding *co-first author
14	Wada T, Miyashita Y, Sasaki M, Aruga Y, Nakamura Y, Ishii Y, Sasahara M, <u>Kanasaki K</u> , Kitada M, Koya D, Shimano H, Tsuneki H, Sasaoka T. Eplerenone ameliorates the phenotypes of metabolic syndrome with NASH in liver-specific SREBP-1c Tg mice fed high-fat and high-fructose diet. <i>American journal of physiology. Endocrinology and metabolism</i> 305 , E1415-1425 (2013). (査読あり)
15	Srivastava, S.P., Koya, D. & <u>Kanasaki, K.</u> MicroRNAs in kidney fibrosis and diabetic nephropathy: roles on EMT and EndMT. <i>BioMed research international</i> 2013 , 125469 (2013). (査読あり)
16	Sugimoto H, Lebleu VS, Bosukonda D, Keck P, Taduri G, Bechtel W, Okada H, Carlson W, Bey P, Rusckowski M, Tampe B, Tampe D, <u>Kanasaki K</u> , Zeisberg M, Kalluri R.. Reply to Regarding the mechanism of action of a proposed peptide agonist of the bone morphogenetic protein receptor activin-like kinase 3. <i>Nat Med</i> 19 , 810-811 (2013) (査読なし)
17	Kitada M, Kume S, Takeda-Watanabe A, S T, <u>Kanasaki K</u> , Koya D. Calorie restriction in overweight males ameliorates obesity-related metabolic alterations and cellular adaptations through anti-aging effects, possibly including AMPK and SIRT1 activation. <i>Biochimica et biophysica acta</i> 1830 , 4820-4827 (2013) (査読あり)
18	Plaks V, Rinkenberger J, Dai J, Flannery M, Sund M, <u>Kanasaki K</u> , Ni W, Kalluri R, Werb Z.. Matrix metalloproteinase-9 deficiency phenocopies features of preeclampsia and intrauterine growth restriction. <i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> 110 , 11109-11114 (2013) (査読あり)
19	<u>Kanasaki, K.</u> , Kitada, M., Kanasaki, M. & Koya, D. The biological consequence of obesity on the kidney. <i>Nephrol Dial Transplant</i> 28 Suppl 4 , iv1-7 (2013) (査読あり)
20	Xu L ,Kanasaki M, He J, Kitada M, Nagao K, Jinzu H, Noguchi Y, Maegawa H, <u>Kanasaki K</u> , Koya D. Ketogenic essential amino acids replacement diet ameliorated hepatosteatosis with altering autophagy-associated molecules. <i>Biochimica et biophysica acta</i> 1832 , 1605-1612 (2013). (査読あり)
21	Kitada, M., Kume, S., <u>Kanasaki, K.</u> , Takeda-Watanabe, A. & Koya, D. Sirtuins as possible drug targets in type 2 diabetes. <i>Current drug targets</i> 14 , 622-636 (2013) (査読あり)
22	He, J., Xu, Y., Koya, D. & <u>Kanasaki, K.</u> Role of the endothelial-to-mesenchymal transition in renal fibrosis of chronic kidney disease. <i>Clin Exp Nephrol</i> 17 , 488-497 (2013). (査読あり)
23	<u>Kanasaki, K.</u> , Yu, W., Bodungen, M., Larigakis, J., Kanasaki, M., Ayala de la Pena, F., Kalluri, R., Hill, H., Loss of beta1-integrin from urothelium results in overactive bladder and incontinence in mice: a mechanosensory rather than structural phenotype. <i>Faseb J</i> 27 , 1950-1961 (2013) (査読あり)
24	<u>Kanasaki, K.</u> , Taduri, G. & Koya, D. Diabetic nephropathy: the role of inflammation in fibroblast activation and kidney fibrosis. <i>Frontiers in endocrinology</i> 4 , 7 (2013) (査読あり)
25	Kume, S., Kitada, M., <u>Kanasaki, K.</u> , Maegawa, H. & Koya, D. Anti-aging molecule, Sirt1: a novel therapeutic target for diabetic nephropathy. <i>Archives of pharmacal research</i> 36 , 230-236 (2013) (査読あり)
26	Kakuda, H., <u>Kanasaki, K.</u> , Koya, D. & Takekoshi, N. The administration of pitavastatin augments creatinine clearance associated with reduction in oxidative stress parameters: acute and early effects. <i>Clin Exp Nephrol</i> 17 , 240-247 (2013). (査読あり)
27	Kitada, M., Kume, S., Takeda-Watanabe, A., <u>Kanasaki, K.</u> & Koya, D. Sirtuins and renal diseases: relationship with aging and diabetic nephropathy. <i>Clin Sci (Lond)</i> 124 , 153-164 (2013) (査読あり)
28	<u>Kanasaki, K.</u> , Kitada, M. & Koya, D. Pathophysiology of the aging kidney and therapeutic interventions. <i>Hypertens Res</i> 35 , 1121-1128 (2012) (査読あり)

29	Takeda-Watanabe, A., Kitada, M., <u>Kanasaki, K.</u> & Koya, D. SIRT1 inactivation induces inflammation through the dysregulation of autophagy in human THP-1 cells. <i>Biochem Biophys Res Commun</i> 427 , 191-196 (2012) (査読あり)

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 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。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
	2014/7	第 57 回 日本腎臓学会学術総会, 金崎啓造、永井貴子、金崎めぐみ、古家大祐, Linagliptin を用いた Dipeptidyl Peptidase-4 阻害による糖尿病マウス腎線維化に対する治療効果における microRNA29 意義
	2014/7	京都大学 T M K プロジェクト設立記念シンポジウム(招待講演), Anti-fibrotic therapy targeting endothelial-to-mesenchymal transition in diabetic kidney, Keizo Kanasaki
1	2014/6	74 th Scientific session, American Diabetes Association, Linagliptin-mediated DPP-4 Inhibition Ameliorates Kidney Fibrosis in Streptozotocin-induced Diabetic Mice via Restoring microRNA29s, Keizo Kanasaki, Sen Shi, Megumi Kanasaki, Swayam Srivastava, Daisuke Koya
2	2014/5	第 57 回 日本糖尿病学会学術総会, 金崎啓造、Sen Shi, 永井貴子、金崎めぐみ、Swayam Srivastava, 古家大祐, Linagliptin を用いた Dipeptidyl Peptidase-4 阻害による糖尿病マウス腎線維化に対する治療効果とその分子機構,
3	2014/5	Asian Pacific Congress of Nephrology 2014, Sen Shi, Keizo Kanasaki, Daisuke Koya, LINAGLIPTIN-MEDIATED DPP-4 INHIBITION AMELIORATES KIDNEY FIBROSIS AND ENDOTHELIAL-TO-MESENCHYMAL TRANSITION IN STREPTOZOTOCIN- INDUCED DIABETIC MICE IN ASSOCIATED WITH RESTORATION OF MICRORNA 29S,
4	2013/11	Kidney Week 2013 (ASN), Keizo, Kanasaki, Takako Nagai, Megumi Kanasaki, Daisuke Koya, Linagliptin-mediated DPP-4 inhibition Cures Kidney Fibrosis in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice by Inhibiting Endothelial -to-Mesenchymal Transition
5	2013/10	第 43 回 日本腎臓学会西部地方会 (招待講演)、金崎啓造、古家大祐、糖尿病性腎症に対する抗線維化を標的とした新規治療法
6	2013/10	第 34 回 日本妊娠高血圧学会 (招待講演)、金崎啓造、COMT 不全がもたらす妊娠高血圧腎症と糖代謝異常
7	2013/9	EASD2013, Anti-fibrotic peptide AcSDKP restores diabetes-suppressed microRNA-let-7 cluster and exhibits therapeutic effect on kidney fibrosis in diabetes, Keizo Kanasaki, Takako Nagai, Swayam Prakash Srivastava, Megumi Kanasaki, Daisuke Koya
8	2013/9	第 28 回 日本糖尿病合併症学会, 金崎啓造、永井貴子、金崎めぐみ、古家大祐, 内因性抗線維化ペプチド AcSDKP を用いた糖尿病マウス腎線維化に対する治療効果と miRNA let-7 family の相関、
9	2013/6	73 th Scientific session, American Diabetes Association, Keizo Kanasaki, Megumi Kanasaki, Daisuke Koya, Catechol-o-methyltransferase deficiency is linked to metabolic syndrome,
10	2013/5	World Congress of Nephrology 2013, Keizo Kanasaki, Takako Nagai, Swayam Srivastava, Megumi Kanasaki and Daisuke Koya, Endogenous anti-fibrotic peptide N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline ameliorates diabetes-associated kidney fibrosis in association with microRNA-let-7 cluster alterations,
11	2012/12	BIT's 1 st International Congress of Gynaecology and Obstetrics 2012 (招待講演), Keizo Kanasaki, Preeclampsia and Metabolic Syndrome; Possible Shared Molecular Mechanisms,
12	2012/10	Kidney Week 2012 (ASN), Takako Nagai, Keizo Kanasaki, Daisuke Koya Endogenous anti-fibrotic peptide N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline inhibits endothelial-mesenchymal transition and diabetes-associated kidney fibrosis,

3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2014/8	Sen Shi, Swayam Srivastava, <u>Keizo Kanasaki</u> ##, Daisuke Koya##, The interaction between DPP-4 and integrin β 1 regulates the signaling that is responsible for the induction of endothelial to mesenchymal transition Kidney International (under review), ##Corresponding author (論文)
2	2014/8	Swayam Prakash Srivastava, Sen Shi, Megumi Kanasaki, Takako Nagai, Munehiro Kitada, Jianhua He, Yuka Nakamura, Yasuhito Ishigaki, <u>Keizo Kanasaki</u> , Daisuke Koya The Antifibrotic MicroRNA Crosstalk in the Action of N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline on Kidney Fibrosis in Diabetes, Diabetes (under review) ##Corresponding author (論文)
3	2014/9	第 17 回腎間質障害研究会 (特別招待講演), 糖尿病における腎線維化と endothelial mesenchymal transition,
4	2014/9	第 46 回国際妊娠病態生理学会 (招待講演), Workshop1, Pathogenesis of preeclampsia: COMT deficiency and its relevance., Keizo Kanasaki,
5	2014/10	第 44 回 日本腎臓学会西部地方会 (教育講演), 糖尿病性腎症、金崎啓造
6	2014/10	Kanasaki, K., Srivastava, S., Koya, D. The antifibrotic microRNA crosstalk in the action of N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline poster presentation in Cell Symposia: Regulatory RNAs
7	2014/11	Kanasaki, K, Sen Shi, Swayam Srivastava, Daisuke Koya. The Interaction Between DPP-4 and Integrin [beta]1 Regulates the Signaling that is Responsible for the Induction of Endothelial to Mesenchymal Transition in Diabetic Kdiney. Poster presentation in Kidney Week 2014 (ASN) ,