

転写因子 c-Maf の発現時期の制御により 糖尿病や慢性腎臓病が治療できる可能性を発見

慢性腎臓病は、糖尿病や高血圧などの生活習慣病が原因で発症することが多く、日本の患者数は成人の8人に1人（約1330万人）と推計されています。慢性腎臓病は、初期症状がほとんどないまま進行し、重症化した腎臓の機能障害は、心筋梗塞や脳卒中、動脈硬化症などの心血管疾患の発症リスクも著しく増加させることから、より早期に診断し、重症化の予防や治療を開始することが必要とされています。しかしながら、現在のところ、進行した慢性腎臓病の根本的な治療薬はありません。

本研究グループは、これまでに、転写因子（遺伝子の発現を制御するタンパク質）c-Maf が、糖尿病に対する治療効果に加えて、腎障害や心血管疾患にも関与する近位尿細管の各種膜輸送体タンパク質の発現を制御していることを発見しています。また、c-Maf は、胎生期の臓器の発達や免疫細胞の機能調節に関与することが知られていますが、成体での働きはよく分かっていません。

本研究では、糖尿病とそれに伴う腎障害を発症するモデルマウスにおいて、成体になってから全身でc-Mafを欠損させたところ、糖尿病による高血糖や腎障害が改善され、腎障害の主な原因の一つである腎臓の酸化ストレスを減少させることを発見しました。すなわち、c-Mafの発現時期を制御することで、糖尿病および慢性腎臓病を改善できると考えられ、c-Mafを標的とした糖尿病および慢性腎臓病の新規治療法の開発につながる可能性が示唆されました。

研究代表者

筑波大学 医学医療系

高橋 智 教授

研究の背景

腎臓には、体液の恒常性向上を担うための腎近位尿細管細胞があります。この細胞は刷子縁構造といわれる多くの微絨毛突起を有し、表面の細胞膜には各種膜輸送体タンパク質（トランスポーター）が存在しています。それらトランスポーターは、血液からろ過された水、電解質、グルコース、アミノ酸など、生体にとって重要な物質の大部分を再吸収する役割を担っています。同時に、腎臓は、常に多量の血液が流れ込むことから、血液や血管の状態の影響を受けやすい臓器でもあります。そのため、糖尿病や高血圧などの生活習慣病や加齢によって血管が脆弱化すると、腎臓の機能は低下し、慢性腎臓病を発症します。しかしながら、現在のところ、進行した慢性腎臓病の根本的な治療薬はありません。

一方、本研究グループ（解剖学・発生学）は、本学腎臓内科グループと共同で、転写因子^{注1}c-Mafが、糖尿病に対する治療効果に加えて、腎障害や心血管疾患にも関与する近位尿細管の各種膜輸送体タンパク質の発現を制御していることを発見しています。c-Mafの機能は広く研究されており、近年、胎生期の臓器の発達や免疫細胞の機能調節だけでなく、成体でも重要な働きがあることが報告されています。しかしながら、c-Maf欠損マウスは胎生致死となることから、マウス成体におけるc-Mafの機能はほとんど解明されていません。そこで、本研究では出生後、時期選択的に全身でc-Mafを欠損できる遺伝子改変マウス（c-Maf cKOマウス）を作製し、c-Mafの成体腎臓における機能解析を行いました。

研究内容と成果

まず、時期選択的にc-Mafを欠損させるための薬剤を投与し、その投与後10日にc-Maf cKOマウスの表現型を解析したところ、通常約50~250倍高濃度のグルコース尿（腎性尿糖）を呈することを発見しました（図1左）。また、ChIPアッセイ^{注2}、およびルシフェラーゼアッセイ^{注3}の結果から、c-Mafが、腎臓において、グルコース再吸収に重要である2つのトランスポーター、Sglt2とGlut2を直接制御していることを見いだしました。さらに、腎性尿糖に加えてアミノ酸尿の傾向を示したことから（図1右）、腎臓を用いたRNAシーケンスによる解析を行なったところ、c-Mafは、水、電解質および各種栄養素を再吸収するさまざまなトランスポーターの発現、すなわち、腎臓における各種栄養素の再吸収という重要な恒常性維持機能に関与していることが明らかになりました（図2）。

次に、腎性尿糖により高血糖を改善させる非インスリン糖尿病治療薬であるSGLT2阻害薬、および、マウスにおける糖尿病改善が知られているGlut2の阻害に着目し、糖尿病とそれに起因する腎障害を発症させたモデルマウスを用いて、時期特異的なc-Maf欠損による糖尿病への影響を確認しました。すると、糖尿病による高血糖状態が、c-Maf欠損により改善しており（図3）、Sglt2、Glut2阻害薬に類似した糖尿病改善効果があることが分かりました。さらに興味深いことに、糖尿病に起因する腎障害による腎線維化も改善され、線維化の主な原因の一つである、腎臓の酸化ストレスを減少させることが示されました（図4）。

今後の展開

恒常性維持機能を担うトランスポーターは、近年、さまざまな疾患の治療標的として注目されており、SGLT2阻害薬をはじめ、臨床でも使用されている治療薬が多く誕生しています。今回発見したc-Maf阻害による各種トランスポーターの発現低下は、個々のトランスポーター阻害薬の効果を同時に発揮させる可能性があります。今後、c-Mafの詳細な機能解析を進めるとともに、糖尿病性腎症などの治療薬の開発を目指します。

参考図

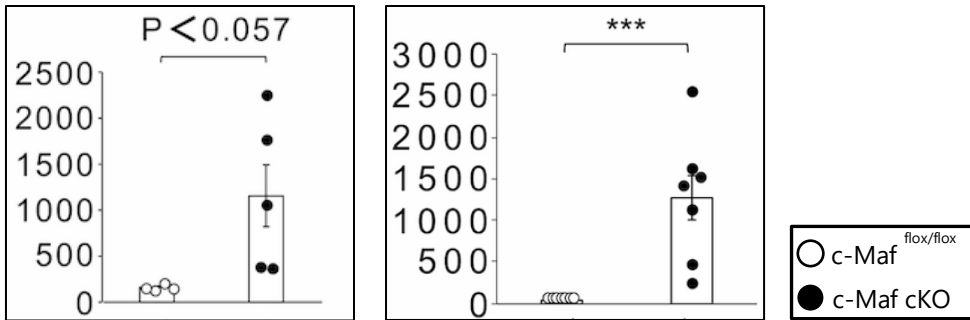


図1 左：タモキシフェン投与後10日目の尿中グルコース(mg/dl)、および、右：アミノ酸(nmol/ml) タモキシフェン投与により c-Maf を全身で欠損した c-Maf cKO マウス (●) は、対照群 c-Maf^{flox/flox} (○) に比べて、高濃度の尿中グルコースおよびアミノ酸を呈した。通常、グルコースとアミノ酸は、近位尿管でほぼ100%再吸収されるため、尿中にはほとんど検出されない。(*** P < 0.001.)

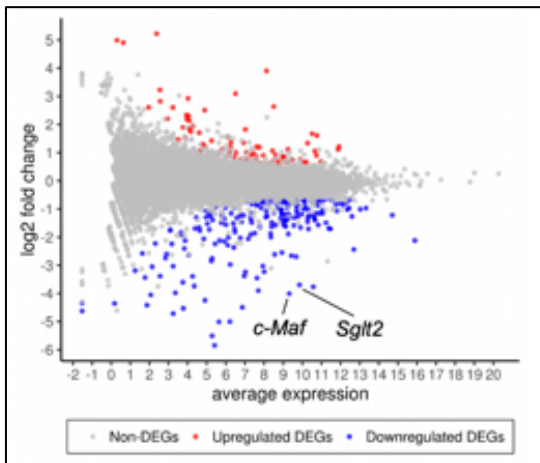


図2 c-Maf 欠損マウスにおける近位尿管トランスポーター発現変動遺伝子 RNA シーケンスの結果から、c-Maf cKO マウスにおいて、c-Maf 欠損により、約30種のトランスポーターで、遺伝子発現が増加(赤丸)または減少(青丸)していることが明らかになった。

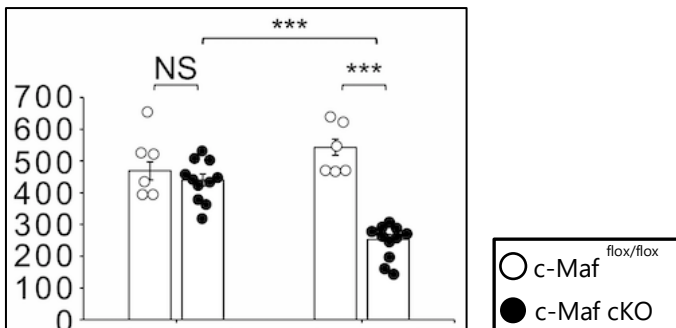


図3 c-Maf 欠損による高血糖状態の改善 タモキシフェン投与前1週(左)に比べて、タモキシフェン投与後5週(右)の c-Maf cko マウス (●) の空腹時血糖(mg/dl)は顕著に減少していた。対照群 c-Maf^{flox/flox} (○) は、タモキシフェン投与後も空腹時血糖の上昇、すなわち糖尿病状態の進行が見られた。(NS: Not Significant, *** P < 0.001.)

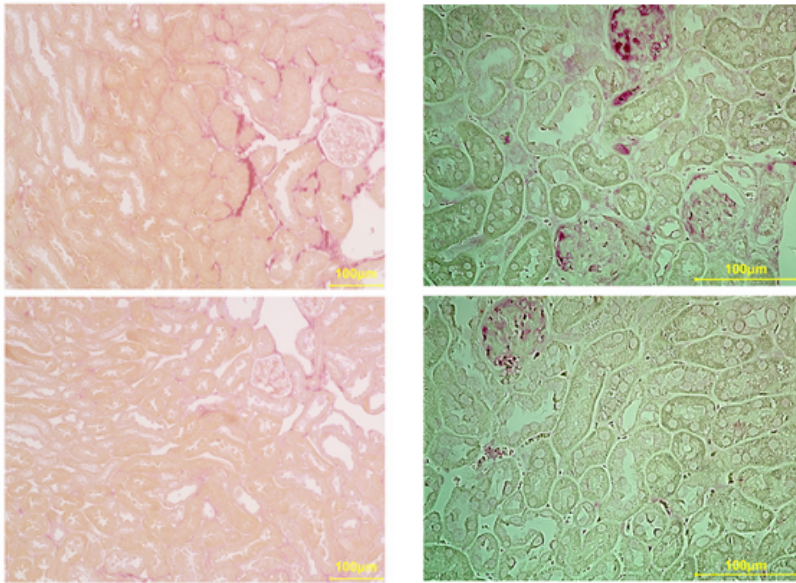


図4 c-Maf 欠損による腎線維化と酸化ストレスの改善

c-Maf cKO マウス(下段)の尿細管間質部に見られる線維化(左列、赤色部分)と腎臓皮質部に広がる酸化ストレス(右列、赤色部分)が優位に減少していた。上段はいずれも対照群。スケールバーは 100 μ m。

用語解説

注1) 転写因子

DNA に書き込まれた遺伝情報の RNA への転写を促進したり抑制したりする働きを持つタンパク質。

注2) ChIP アッセイ

クロマチン免疫沈降アッセイとも言われ、ヒストン修飾、または転写因子-DNA の結合相互作用を介して転写調節を監視することによって、ゲノムとプロテオーム(細胞内で発現しているタンパク質)間の結合を同定する方法。

注3) ルシフェラーゼアッセイ

遺伝子は、プロモーター(DNA の塩基配列のうち、RNA の合成を触媒する酵素、タンパク質が結合した、伝令 RNA に転写の開始を指令する部分)やシグナル応答配列(c-Maf における Maf 認識領域)などによって転写量が調節されている。その転写量の調節を測定するための方法の一つ。目的のプロモーターの制御によって発現するルシフェラーゼ酵素(発光に伴う化学反応を触媒する酵素)からの発光量を測定することにより、プロモーター活性の解析を行う。

研究資金

本研究は、JST COI-NEXT 共創の場プロジェクト JPMJPF2017、上原記念生命科学財団、基盤研究 A 19H00966、高松宮妃癌研究基金によるプロジェクトの一環として実施されました。

掲載論文

【題名】 Transcription factor c-Maf deletion improves streptozotocin-induced diabetic nephropathy by directly regulating Sglt2 and Glut2

(転写因子 c-Maf 欠損は Sglt2、Glut2 の直接制御によりストレプトゾトシン誘導型糖尿病性腎症を改善する)

【著者名】 Mitsunori Fujino, Naoki Morito, Takuto Hayashi, Masami Ojima, Shun Ishibashi, Akihiro

Kuno, Seizo Koshiba, Kunihiro Yamagata, and Satoru Takahashi

【掲載誌】 JCI insight

【掲載日】 2023年2月14日

【DOI】 10.1172/jci.insight.163306

問合わせ先

【研究に関すること】

高橋 智 (たかはし さとる)

筑波大学医学医療系 教授

URL: <http://www.md.tsukuba.ac.jp/basic-med/anatomy/embryology/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp