招請講演

4. 糖尿病性腎症の病態に立脚した治療

槇野 博史

Key words : 糖尿病性腎症, 糸球体過剰濾過, 細胞周期, 血管新生, 炎症

はじめに

正常耐糖能, 耐糖能異常, 2 型糖尿病へと進展する過程で, 膵Langerhans島 (ラ氏島) の肥大と細胞増殖と高インスリン血症が初期にもたらされ, その後ラ氏島炎症やアポトーシスによって細胞の減少が進行し最終的にはラ氏島の線維化によってインスリン分泌能の廃絶がもたらされる. その過程はまさしく糖尿病性腎症の進展過程に類似性がある. 腎症の初期においては糸球体過剰濾過や糸球体肥大がもたらされ, その後炎症とアポトーシスによって細胞数は減少し, 最終的には糸球体硬化と間質の線維化によって末期腎不全に至る (図 1). 腎症の研究においてこれらのステージにおける病態を検討し, さらに臨床研究を行ってきた. その結果糸球体過剰濾過と血管新生, 細胞肥大と細胞周期, microinflammationの関与を明らかにした (図 2). さらにこれらの複数の病態に対して治療介入を行うにはチーム医療を基盤にした集約的治療が重要

であると考え臨床研究を推進している. 本講演ではこれら当科のデータを中心に概説した.

1. 糸球体の過剰濾過と血管新生

糖尿病性腎症の進行には糸球体過剰濾過が関与しており, その成因として輸入細動脈の拡張が指摘されている. 我々は糸球体肥大を血行動態と血管新生の側面から検討してきた. 糸球体過剰濾過は糖尿病性腎症の最も早期の変化であるが, 輸入細動脈と糸球体毛細血管の拡張には, 輸入細動脈内皮細胞や糸球体内皮細胞の, ecNOS (endothelial cell nitric oxide synthase) の発現が上昇して, nitric oxideの産生を増加させることによって血管拡張が引き起こされていることを報告した¹⁾. さらにadrenomedullinとその受容体の輸入細動脈における発現上昇が血管拡張と糸球体過剰濾過に関与していることを報告した²⁾.

血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor : VEGF) は代表的な血管新生促進因子である. VEGFは腎糸球体足細胞より主とし

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学

109th Scientific Meeting of the Japanese Society of Internal Medicine : Invited lecture : 4. Development of new therapeutics based on the progression mechanisms of diabetic nephropathy.

Hirofumi Makino : Department of Medicine and Clinical Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Japan.

本講演は, 平成 24 年 4 月 15 日 (日) 京都市・みやこめっせにて行われた.

図 1. 2 型糖尿病と糖尿病性腎症進展の類似性

NGT : normal glucose tolerance

IGT : impaired glucose tolerance

IFG : impaired fasting glucose

図 2. 糖尿病性腎症の成因と治療標的

て産生され, 内皮細胞上の受容体 VEGFR-1 (vascular endothelial growth factor receptor-1), VEGFR-2 に作用する. 糖尿病性腎症モデルにお

ける抗 VEGF 療法による糖尿病性腎症の治療効果が示されているが, 直接的 VEGF 阻害薬以外にも, 種々の血管新生抑制因子による腎症治療効果を

図3. 血管新生抑制因子による糖尿病性腎症治療効果

報告してきた。当科の前島らは血管新生抑制因子であるtumstatin³⁾, endostatin⁴⁾, NM-3⁵⁾の投与によって、糸球体肥大とアルブミン尿が抑制され、血管新生が糖尿病性腎症の発症初期のメカニズムとして重要であることを明らかにした(図3)。血管内皮細胞をVEGF刺激した際に発現増加する遺伝子の中から血管新生抑制作用を示すvasohibin-1 (VASH-1)が東北大学の佐藤らによって新たに同定されたが、VASH-1はsprouting(発芽)等の活発な血管新生部位では発現が低下し、血管新生終息部位にて発現増加し、血管新生の終息/血管の成熟に関与すると考えられる。当科の前島らは、VASH-1発現アデノウィルスベクター(AdVASH-1)をSTZ(streptozotocin)誘発1型糖尿病モデルマウス並びに2型糖尿病モデルであるdb/dbマウスに静脈内投与し、腎症変化の有意な抑制効果を観察した^{6,7)}。STZ群における腎皮質でのTGF- β (transforming growth factor- β), macrophage chemoattractant-1(MCP-1), receptor for AGE(advanced glycation endproduct)(RAGE), VEGFR-2発現増加ならびにリン酸化がAd-hVASH-1投与群で有意

に抑制された。内在性血管新生制御因子VASH-1を外因性に投与することにより、内皮細胞のみならずメサンギウム細胞への直接作用をも介して血管新生制御・抗線維化・抗炎症・AGE作用抑制等の機序から糖尿病性腎症の進展を制御する可能性が示唆された。

2. 糖尿病性腎症と細胞周期異常

糖尿病性腎症に認められる細胞肥大は、蛋白合成の亢進とG1期細胞周期停止が関与しており、サイクリンインヒビターであるp21^{Cip1}, p27^{Kip1}の活性化が関与していると指摘されてきている。我々はpioglitazoneをOLETF(Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty)ラットに投与したところ、糸球体上皮細胞において増加したp21^{Cip1}, p27^{Kip1}陽性細胞を減少させ、IV型コラーゲンやTGF- β の発現が減少して、細胞外基質の蓄積やマクロファージの浸潤、そしてアルブミン尿や糸球体肥大が抑制されることを報告した。peroxisome proliferator activated receptor(PPAR γ)はメサンギウム細胞さらには糸球体上皮細胞に

発現しており、これらの細胞が作用ターゲットとなっていると考えられる⁸⁾。さらにgalectin-9は、活性化T細胞や胸腺細胞などの細胞にアポトーシスを誘導することが知られており細胞周期制御の調節因子である。そこでdb/dbマウスにgalectin-9 リコンビナント蛋白を投与したところ、galectin-9が糖尿病性腎症のG1期における細胞周期停止を正常化して、腎症への治療効果を発揮することを報告した⁹⁾。

3. microinflammationの関与

典型的な炎症性疾患の病態は、発赤・腫脹・疼痛・変形・機能障害を主徴とするものであり、血清学的にはCRP (C-reactive protein) の上昇や赤沈の亢進を伴い、関節リウマチや血管炎などが代表的な炎症性疾患である。これに対して、動脈硬化や糖尿病性腎症に見られる「炎症」は、従来の炎症の概念とは異なり、血管壁を主座とする軽度の慢性炎症であり、CRPの上昇も高感度測定キットで検出されるレベルであることから(高感度CRP)、我々は両者を区別するためにmicroinflammationと呼んでいる。microinflammationの基本的病態の一つは内皮細胞障害(内皮細胞の活性化)であり、他の炎症性疾患と同様に血管壁に細胞接着分子、ケモカインの発現亢進とマクロファージの浸潤を認める。

糖尿病性腎症の成因に炎症が関与するという仮説を提示して、一連の研究でこれを検証した。1993年に古田らによって糖尿病性腎症の腎組織に炎症細胞が浸潤することが報告されたが、当科の四方らは糖尿病性腎症患者と糖尿病動物の腎組織にマクロファージの浸潤とICAM-1(inter-cellular adhesion molecule-1)などの接着分子の発現亢進が起こることを明らかにし、糖尿病性腎症の発症進展に炎症が関与している可能性を示した¹⁰⁾。さらに我々は、ICAM-1 ノックアウトマウス¹¹⁾、macrophage scavenger receptor-A ノックアウトマウス¹²⁾では、ストレプトゾトシン

誘導糖尿病において糸球体内へのマクロファージの浸潤が抑制されることによって、アルブミン尿や糸球体の細胞外基質の増加が抑制されることを示し、これらの接着分子を阻害することが、炎症の抑制と腎症の治療に有用であることを示した(図4)。hydroxymethylglutaryl-CoA reductase還元酵素阻害薬(以下スタチンと略す)はコレステロール低下作用のみならず、多面的作用により動脈硬化領域で欠かすことのできない薬剤である。スタチンの多面的作用の一つは抗炎症作用である。メバロン酸経路の下流の低分子G蛋白、nuclear factor-kappa B(以下NF- κ Bと略す)などの転写因子の発現が抑制され、酸化ストレスの低下が惹起されることが知られている。スタチンの抗炎症作用が腎症の発症進展を抑制するという仮説を立て、糖尿病ラットにスタチンを投与したところ、血糖やコレステロール値の変化なくアルブミン尿が低下した(げっ歯類では酵素の誘導が起こるためスタチンによる長期的なコレステロール低下作用は認められない)。当科の片岡らはスタチン投与群が腎臓におけるICAM-1の発現低下、マクロファージの浸潤抑制、DNA(deoxyribonucleic acid)の酸化マーカーである8-hydroxydeoxyguanosine(以下8-OHdGと略す)の発現を抑制し、NF- κ Bの活性化を抑制することを報告した¹³⁾。その後当科において炎症を制御する可能性を持つ薬剤を用いて動物モデルで検討したところ、チアゾリジン系薬¹⁴⁾、免疫抑制薬¹⁵⁾などでも同様のメカニズムで腎症の発症進展を抑制することが示された。

また最近糖尿病の治療において重要な位置を占めているglucagon-like peptide-1 (GLP-1)受容体アゴニストは、当科の小寺らの検討により腎症においても血糖に影響されない腎症抑制効果を有し、そのメカニズムの一つとしてマクロファージの腎組織への浸潤抑制、NF- κ Bの発現抑制、酸化ストレスの抑制などを含む炎症の抑制が示された¹⁶⁾。GLP-1受容体は膵臓のみならずマクロファージ、腎内皮細胞にも発現しており、

図 4. ストレプトゾトシン誘発糖尿病ICAM-1 ノックアウトマウスにおける糖尿病性腎症進展抑制効果

抗炎症作用にはマクロファージや内皮細胞への直接作用も関与していると考えられる。インクレチン製剤の血糖降下薬としての有用性に留まらない多面的効果についての更なる可能性と知見の集積が示唆される。さらに、当科ではインスリン抵抗性や肥満の改善に効果を期待される peroxisome proliferator-activated receptor- δ (PPAR δ) アゴニストに抗炎症作用を介した腎症抑制作用が認められると報告し¹⁷⁾、今後抗炎症作用を軸とした新たな腎症治療薬についても研究が進んでいくことを期待するものである。

炎症の制御は、血糖・血圧コントロール、レニン-アンジオテンシン系の制御とともに腎症の発症進展抑制の一角を担う治療法となる可能性がある。特にDPP-4 (dipeptidyl peptidase-4) 阻害薬やGLP-1 受容体アゴニスト、PPARファミリーのアゴニストなどの新規薬剤については、

血糖コントロールを越えた血管合併症の制御の可能性も有しており、今後更なる知見の集積が待たれる。

4. 糖尿病性腎症のバイオマーカー

早期糖尿病性腎症のgold standardは微量アルブミン尿である。しかし、アルブミン尿は高血圧(良性腎硬化症)、高度肥満、メタボリック・シンドロームでも陽性になるので注意が必要である。IV型コラーゲン定量が糖尿病性腎症の早期診断の指標としての意義を初めて報告した¹⁸⁾。IV型コラーゲンは生体の細胞外マトリックスの構成成分であり、腎では主として糸球体基底膜に分布している。糖尿病性腎症では、糸球体の基底膜肥厚とメサンギウム領域の拡大が特徴的な変化であり、これはIV型コラーゲンを主体と

する細胞外マトリックスの増加に起因する。このため尿中アルブミンなどの血中由来蛋白が、糸球体の透過性異常を反映するのに対し、尿中IV型コラーゲンは、糸球体組織由来であるため糸球体の傷害自体を反映する指標と考えることができる。糖尿病性腎症において尿中IV型コラーゲンは、尿中アルブミン値が正常域を示す腎症前期（第一期）においても上昇し、本法は早期の診断並びに病態の進展予知に有用である。また、血清中の高感度CRPや種々の炎症関連サイトカインは糖尿病患者で上昇することが報告されてきた。活性化マクロファージから分泌されるinterleukin-18 (IL-18) は冠動脈疾患患者の予後予測因子として有用であることが知られているが、当科の中村らは糖尿病患者の血清中IL-18が頸動脈の内膜中膜複合体、脈波伝播速度とともに尿中アルブミン排泄量と相関することを報告した¹⁹⁾。同様に、当科の梶谷らはtumor necrosis factor (TNF- α) が尿中アルブミン排泄量や動脈硬化マーカーと相関することを示した²⁰⁾。これらは他の炎症関連サイトカインやICAM-1発現を促進させることが知られており、動脈硬化と腎症に共通する炎症メカニズムの一端を担う重要な因子と考えられる。また我々は2型糖尿病患者において尿中のprostaglandin D synthase (PGDS) 排泄量が、心血管イベントの発生と関連があり、新たな心血管リスクマーカーとして報告した²¹⁾。

5. 糖尿病性腎症の治療とエビデンスの発信

わが国から発信されたエビデンスとして最も重要なものは、アンジオテンシン変換酵素阻害薬の効果を世界に先駆けて報告した田熊らの研究である。田熊らの報告がその後のACE阻害薬やARB (angiotensin receptor blocker) のエビデンスの構築を導く先端的な研究であると考えられる。また熊本スタディーでは2型糖尿病にお

いて、厳格な血糖コントロールが腎症の一次予防、二次予防いずれにおいても効果が認められ、2型糖尿病においても腎症の発症・進展の抑制に血糖管理が重要であることを実証した研究として高く評価されている。このように質の高い研究がわが国から発信されているものの、その数は欧米と比較して極端に少ないと思われる。筆者らは514人の2型糖尿病患者を対象としたわが国最初の大規模臨床試験であるINNOVATION studyでは、telmisartanが、微量アルブミン尿を呈する日本人2型糖尿病患者において、プラセボに比し有意に顕性腎症への移行を抑制し、この効果は、治療開始時の高血圧の有無に関係なく認められた²²⁾。近年、強力な治療介入によりネフローゼ症候群が寛解した複数の糖尿病性腎症の症例が報告されている。これらの知見から、集約的な治療を行うことにより、顕性腎症期の症例でも寛解が可能であると期待されるが、大規模臨床試験によるエビデンスは存在しない。

さらに著者らは顕性蛋白尿を呈する2型糖尿病に伴う糖尿病性腎症患者におけるolmesartanの腎症進展抑制作用を検討した(ORIENT試験)。血清クレアチニンの2倍化、末期腎不全、死亡のいずれか最も早く出現した事象を主要評価項目とした。その結果、尿蛋白を有意に減少させたものの、腎複合エンドポイントにおいてはACE阻害薬投与下においては更なる併用効果を認めなかった。特にrapid GFR (glomerular filtration rate) declinerと考えられる比較的急速に腎機能が低下した群では併用効果がなかった。一方心血管系複合エンドポイントでは、プラセボ群と比較して36%有意に抑制した^{23, 24)}。

我々は、2005年より厚生労働省研究事業として、Diabetic Nephropathy Remission and Regression Team Trial (DNETT-Japan)を開始した²⁵⁾。本研究は、顕性腎症(3期～4期)を伴う2型糖尿病患者を対象に、医師と糖尿病療養指導士(CDEJ)を中心としたコメディカルスタッフが参加するチーム医療によって強力な治療介入

図 5. DNETT-Japanの研究プロトコル

表. DNETT-Japanの治療法と目標値

	従来療法群	集約的治療群
血糖管理 (JDS値)	HbA1c $< 6.5\%$	HbA1c $< 5.8\%$
血圧管理	$< 130/80$ mmHg	$< 125/75$ mmHg ACE阻害薬, ARBを併用 家庭血圧測定
脂質管理	LDL.cho < 120 mg/dl	LDL.cho < 100 mg/dl スタチン系薬剤を使用
食事: エネルギー	25 $\sim$ 30 kcal/kg/日	30 kcal/kg/日
蛋白質	1.0 g/kg/日	0.8 g/kg/日
食塩	6 g/日	5 g/日
その他		服薬指導・禁煙指導・生活指導

を行う（集約的治療）ことにより，腎症の進展を抑制できるか否か，更には寛解させることが可能であるかを検証する多施設共同無作為化臨床試験である．対象は顕性腎症であり，プロトコルAでは腎機能が比較的保たれている群（第3期）を対象として蛋白尿の減少効果を主要評価項目としている（図5）．プロトコルBでは血清クレアチニン値の上昇が見られる症例（第4期）を対象に血清クレアチニン値の2倍化，透析療法への導入または腎移植，死亡を複合エンドポ

イントとして，集約的治療法における腎症の進行抑制効果を検討する（図5）．両プロトコルとも，強力な治療介入を行う集約的治療群と，従来の治療を継続する従来療法群の2群に無作為に割付けて5年間観察する．治療目標値は，従来療法群では日本糖尿病学会，日本高血圧学会，日本動脈硬化学会が提唱している治療ガイドラインに準拠しており，集約的治療法群の場合は，これよりも更に厳しい治療目標を設定した（表）．薬物療法は，従来療法群の場合は現在

の標準的な治療を継続し、集約的治療群では降圧薬としてACE阻害薬とARB、高脂血症治療薬としてHMG-CoA還元酵素阻害薬（スタチン）を、サプリメントとしてマルチビタミンを必ず使用する。食事療法は、デジタルカメラを用いた食事記録などを参考に、管理栄養士が栄養指導を行う。また、集約的治療群では、家庭血圧計による早朝血圧の測定、禁煙指導、服薬状況の厳密なチェックを行い、治療効果の向上を図る。本研究では、2006年末までに全国の約130施設のご参加を得て、310症例が観察期間に入り、200症例が登録されており、現在1回目の中間解析を行っているところである。上記のように、DNETT-Japanではチーム医療によって可能な限り積極的な治療介入を行うことにより、腎症の進展阻止・寛解が可能か否かを検証するとともに、腎症の治療法を確立することを目指している。

おわりに

糖尿病性腎症の発症・進展には種々のメカニズムが関与していることを示してきたが、それらの種々病態に介入するためには、チーム医療による集約的治療が重要であると考えている。今後も基礎研究と臨床研究を両輪として、糖尿病性腎症による腎不全や心血管病を抑制したいと考えている。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：横野博史：講演料（第一三共、日本ベーリンガーインゲルハイム）、寄付金（第一三共、日本ベーリンガーインゲルハイム）

文 献

- 1) Sugimoto H, et al: Increased expression of endothelial cell nitric oxide synthase (eNOS) in afferent and glomerular endothelial cells is involved in glomerular hyperfiltration of diabetic nephropathy. *Diabetologia* 41: 1426-1434, 1998.
- 2) Hiragushi K, et al: The role of adrenomedullin and receptors in glomerular hyperfiltration in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kidney Int* 65: 540-550, 2004.
- 3) Yamamoto Y, et al: Tumstatin peptide, an inhibitor of angiogenesis, prevents glomerular hypertrophy in the early stage of diabetic nephropathy. *Diabetes* 53: 1831-1840, 2004.
- 4) Ichinose K, et al: Antiangiogenic endostatin peptide ameliorates renal alterations in the early stage of a type 1 diabetic nephropathy model. *Diabetes* 54: 2891-2903, 2005.
- 5) Ichinose K, et al: 2-(8-hydroxy-6-methoxy-1-oxo-1h-2-benzopyran-3-yl) propionic acid, an inhibitor of angiogenesis, ameliorates renal alterations in obese type 2 diabetic mice. *Diabetes* 55: 1232-1242, 2006.
- 6) Nasu T, et al: Vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis, ameliorates renal alterations in a mouse model of diabetic nephropathy. *Diabetes* 58: 2365-2375, 2009.
- 7) Saito D, et al: Amelioration of renal alterations in obese type 2 diabetic mice by vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis. *Am J Physiol Renal Physiol* 300: F873-886, 2011.
- 8) Okada T, et al: Thiazolidinediones ameliorate diabetic nephropathy via cell cycle-dependent mechanisms. *Diabetes* 55: 1666-1677, 2006.
- 9) Baba M, et al: Galectin-9 inhibits glomerular hypertrophy in db/db diabetic mice via cell-cycle-dependent mechanisms. *J Am Soc Nephrol* 16: 3222-3234, 2005.
- 10) Sugimoto H, et al: Increased expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in diabetic rat glomeruli: glomerular hyperfiltration is a potential mechanism of ICAM-1 upregulation. *Diabetes* 46: 2075-2081, 1997.
- 11) Okada S, et al: Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are resistant against renal injury after induction of diabetes. *Diabetes* 52: 2586-2593, 2003.
- 12) Usui HK, et al: Macrophage scavenger receptor-deficient mice are resistant against diabetic nephropathy through amelioration of microinflammation. *Diabetes* 56: 363-372, 2007.
- 13) Usui H, et al: HMG-CoA reductase inhibitor ameliorates diabetic nephropathy by its pleiotropic effects in rats. *Nephrol Dial Transplant* 18: 265-272, 2003.
- 14) Ohga S, et al: Thiazolidinedione ameliorates renal injury in experimental diabetic rats through anti-inflammatory effects mediated by inhibition of NF- κ B activation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006.
- 15) Yozai K, et al: Methotrexate prevents renal injury in experimental diabetic rats via anti-inflammatory actions. *J Am Soc Nephrol* 16: 3326-3338, 2005.
- 16) Kodera R, et al: Glucagon-like peptide-1 receptor agonist ameliorates renal injury through its anti-inflammatory action without lowering blood glucose level in a rat model of type 1 diabetes. *Diabetologia* 54: 965-978, 2011.
- 17) Matsushita Y, et al: Activation of peroxisome proliferator-activated receptor delta inhibits streptozotocin-induced diabetic nephropathy through anti-inflammatory mechanisms in mice. *Diabetes* 60: 960-968, 2011.

- 18) Hayashi Y, et al : Serum and urinary concentrations of type IV collagen and laminin as a marker of microangiopathy in diabetes. *Diabet Med* 9 : 366–370, 1992.
  - 19) Nakamura A, et al : Serum interleukin-18 levels are associated with nephropathy and atherosclerosis in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 28 : 2890–2895, 2005.
  - 20) Kajitani N, et al : Microinflammation is a common risk factor for progression of nephropathy and atherosclerosis in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 88 : 171–176, 2010.
  - 21) Yoshikawa R, et al : Urinary PGDS levels are associated with vascular injury in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract* 76 : 358–367, 2007.
  - 22) Makino H, et al : Prevention of transition from incipient to overt nephropathy with telmisartan in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 30 : 1577–1578, 2007.
  - 23) Imai E, et al : Effects of olmesartan on renal and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes with overt nephropathy : a multicentre, randomised, placebo-controlled study. *Diabetologia* 54 : 2978–2986, 2011.
  - 24) Imai E, et al : Olmesartan Reducing Incidence of End-stage Renal Disease in Diabetic Nephropathy Trial (ORIENT) : rationale and study design. *Hypertens Res* 29 : 703–709, 2006.
  - 25) Shikata K, et al : Diabetic Nephropathy Remission and Regression Team Trial in Japan (DNETT-Japan) : rationale and study design. *Diabetes Res Clin Pract* 87 : 228–232, 2010.
-