

総合分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業
(難治性疾患等実用化研究事業(腎疾患実用化研究事業)総合分担研究報告書)

1. 血液サンプル・尿サンプルのレクチンアレイ解析の基礎的検討

研究分担者

中司敦子・岡山大学病院・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教

江口潤・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教

勅使川原早苗・岡山大学院医歯薬学総合研究科・地域医療人材育成講座・助教

利根淳仁(岡山大学病院・糖尿病センター・助教)

肥田和之・独立行政法人国立病院機構岡山医療センター・糖尿病・代謝内科・医長

伊勢田泉・独立行政法人国立病院機構岡山医療センター・糖尿病・代謝内科・常勤医

和田淳・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・准教授

研究要旨

血清サンプルを用いたレクチンマイクロアレイ (GlycoStation™, LecChip™) による測定を行うための血清前処置の方法について検討した。血清10 µLをヒト血清用アフィニティ除去スピニングカートリッジ (Agilent Technologies) にアプライして処理を行い、albumin, IgG, α1-antitrypsin, IgA, transferrin, haptoglobinの6種類の主要タンパク質を除去した。さらに溶出バッファーからPBSへとバッファー交換を行うことによりバッファー交換を施行することによってCy3標識の効率が上昇し、また凍結後のサンプルの凝集を防止することができた。糖尿病性腎症、膜性腎症、IgA腎症患者血清の糖鎖プロファイルの検出に成功し、さらに健常者と比較したが、糖尿病性腎症に特異的な糖鎖構造の変化は見いだせなかった。

尿サンプルを用いたレクチンマイクロアレイ (GlycoStation™, LecChip™) による測定を行うための尿前処置の方法について検討した。尿は50 mLをCentriconで5000g・40分、さらにMicroconで14,000g・70分遠心して約100倍に濃縮した。濃縮した尿10 µLをヒト血清用アフィニティ除去スピニングカートリッジ (Agilent Technologies) にアプライして処理を行い、albumin, IgG, α1-antitrypsin, IgA, transferrin, haptoglobinの6種類の主要タンパク質を除去した。さらに溶出バッファーからPBSへとバッファー交換を行うことによりバッファー交換を施行することによってCy3標識の効率が上昇し、また凍結後のサンプルの凝集を防止することができた。さらに糖尿病性腎症、膜性腎症、腎硬化症患者血清の糖鎖プロファイルを健常者と比較したが、糖尿病性腎症に特異的な糖鎖構造の変化は見いだせなかったものの、尿サンプルの検討では、疾患により異なる糖鎖プロファイルが検出できた。

A. 研究目的

血清サンプルを用いたレクチンマイクロアレイ (GlycoStation™, LecChip™) による測定を行うための血清前処置の方法について検討した。さらに糖尿病性腎症(n=4)・膜性腎症(n=2)・IgA腎症(n=2)において健常人をコントロールとした血清のレクチンマイクロアレイによる糖鎖比較検討を行った。

B. 研究方法

血清・尿の前処置

尿は50 mLをCentriconで5000g・40分、さらにMicroconで14,000g・70分遠心して約100倍に濃縮した。血清および濃縮した尿10 µLをそれぞれヒト血清用アフィニティ除去スピニングカートリッジ (Agilent Technologies) にアプライして処理を行

い、albumin, IgG, α1-antitrypsin, IgA, transferrin, haptoglobinの6種類の主要タンパク質を除去した。この6種類で総タンパク質の85-90%を占めている。

バッファー交換と濃縮

ヒト血清用アフィニティ除去スピニングカートリッジで最終的に用いる溶出バッファーからPBSへとバッファー交換を行った。溶出バッファーには第1級アミンが含まれており、Cy3標識の際に標識効率が低下してしまうためである。また凍結後サンプルに凝集(沈殿)が生じることが判明し、バッファー交換によって沈殿が回避できることが判明した。ULTRAFREE0.5 BIOMAX-5k (Millipore) にサンプル500 µLをアプライして、10倍濃縮を2回行い、最終的には50 µLに調整した。調整した最終サンプルは20倍希釈してMicroBCA Protein Assay Kit (PIERCE) を用いてタンパク定

量を行った。

Cy3標識およびレクチンアレイ解析

タンパク定量の結果をもとに、すべてのサンプルを50 µg/mLに調整し、うち20 µg/mLをCy3 (100 µgタンパク標識用)と混合して室温、暗所にて1時間反応させた。Cy3標識したサンプルをゲル濾過 (Zeba Desalt Spin Columns 0.5 ml, PIRECE)して未反応のCy3を除き、回収されたタンパク量を1 µgとして、Probing Bufferにて2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.063, 0.031 µg/mLの溶液を調整した。それぞれのサンプル各100 µL (1ウエルあたり)をレクチンアレイにアプライして、20、暗所にて15時間反応させた。

測定および解析

LecChipの測定はGlycoStation™Reader1200によって行った。測定条件は露光時間133 msec, Gain 85, 95, 105, 115とした。測定して得られたスキャン画像(16 bit TIFF)をArray-Pro™Analyzerによって数値化して専用解析ソフトGlycoStation Toolsを用いて解析を施行した。

C . 研究結果

血清サンプルを用いた糖尿病性腎症、膜性腎症、IgA腎症とコントロールとの比較を図1-3に示した。タンパク濃度250ng/mLをGain 95で測定したシグナルで比較を行った。青が健常者コントロールで、紫色が各症例のシグナルを表している。健常者と患者のサンプルのシグナルの平均値が1となるように規格化を施行してグラフ化している。血清のレクチンアレイ解析では、いずれ症例においても、コントロールとほぼ同様のプロファイルが得られ、糖尿病性腎症に一定した糖鎖構造の変化は見出せなかった。

一方糖尿病性腎症患者の血清サンプル(図4)と尿サンプル(図5)のレクチンアレイを検討したところ、尿サンプルにおいてのみ異なる糖鎖プロファイルが検出できた。

D . 考察

血清のレクチンアレイを施行する際には血清中に多量に存在する主要タンパクを除去し、さらにその溶出バッファーからPBSへのバッファー交換が必要であることが判明した。バッファー交換を施行することによってCy3標識の効率が上昇し、また凍結後のサンプルの凝集を防止することができた。

さらに糖尿病性腎症、膜性腎症、IgA腎症患者血清の糖鎖プロファイルを健常者と比較したが、糖尿病性腎症に特異的な糖鎖構造の変化は見いだせなかった。

糖尿病性腎症、膜性腎症、腎硬化症とコントロールとの比較を図1-2に示した。タンパク濃度250ng/mLをGain 95で測定したシグナルで比較を

行った。青が健常者コントロールで、紫色が各症例のシグナルを表している。健常者と患者のサンプルのシグナルの平均値が1となるように規格化を施行してグラフ化している。血清のレクチンアレイ解析では、いずれ症例においても、コントロールとほぼ同様のプロファイルが得られ、糖尿病性腎症に一定した糖鎖構造の変化は見出せなかった(図1)が、尿レクチンアレイでは疾患により異なる糖鎖プロファイルが検出できた(図2)。

E . 結論

レクチンマイクロアレイによる糖鎖プロファイルにおいては、血清サンプルでは疾患特異的な変化が見出される可能性は低く尿サンプルの解析の方が、疾患特異的な変化が見出される可能性が高いと結論した。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Nakatsuka A, Wada J, Hida K, Hida A, Eguchi J, Teshigawara S, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Ogawa D, Kagechika H, Makino H. RXR antagonism induces G0/G1 cell cycle arrest and ameliorates obesity by up-regulating the p53-p21^{Cip1} pathway in adipocytes. *J Pathol* 226(5), 784-795, 2012
2. Teshigawara S, Wada J, Hida K, Nakatsuka A, Eguchi J, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Iseda I, Matsushita Y, Miyatake N, McDonald JF, Hotta K, Makino H. Serum vaspin concentrations are closely related to insulin resistance and rs77060950 at SERPINA12 genetically defines distinct group with higher serum levels in Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 97(7), E1202-1207, 2012
3. Kawai D, Takaki A, Nakatsuka A, Wada J, Tamaki N, Yasunaka T, Koike K, Tsuzaki R, Matsumoto K, Miyake Y, Shiraha H, Morita M, Makino H, Yamamoto K. Hydrogen-rich water prevents progression of non-alcoholic steatohepatitis and accompanying hepatocarcinogenesis in mice. *Hepatology* 56(3), 912-921, 2012
4. Kanzaki M, Wada J, Kikumoto Y, Akagi S, Nakao K, Sugiyama H, Makino H. The therapeutic potential of synthetic human atrial natriuretic peptide in nephrotic syndrome: a randomized controlled trial. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 5, 91-96, 2012

5. Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Hida K, Eguchi J, Horiguchi CS, Ogawa D, Matsuki Y, Hiramatsu R, Yagita H, Kakuta S, Iwakura Y, Makino H. Vaspin is an adipokine ameliorating ER stress in obesity as a ligand for cell-surface GRP78/MTJ-1 complex. *Diabetes* 61(11), 2823-2832, 2012
6. Tachibana H, Ogawa D, Matsushita Y, Bruemmer D, Wada J, Teshigawara S, Eguchi J, Sato-Horiguchi C, Uchida HA, Shikata K, Makino H. Activation of liver x receptor inhibits osteopontin and ameliorates diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 23(11), 1835-1846, 2012
7. Inoue J, Wada J, Teshigawara S, Hida K, Nakatsuka A, Takatori U, Kojo S, Akagi S, Nakao K, Miyatake N, McDonald JF, Makino H. The serum vaspin levels are reduced in Japanese chronic hemodialysis patients. *BMC Nephrol* 13(1), 163, 2012
8. Wada J and Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Clin Sci* 124(3), 139-152, 2013
9. Sugiyama K, Sada KE, Kurosawa M, Wada J, Makino H. Current status of the treatment of microscopic polyangiitis and granulomatosis with polyangiitis in Japan. *Clin Exp Nephrol* 17(1), 51-58, 2013
10. Murakami K, Wada J, Ogawa D, Horiguchi CS, Miyoshi T, Sasaki M, Uchida HA, Nakamura Y, Makino H. The effects of telmisartan treatment on the abdominal fat depot in patients with metabolic syndrome and essential hypertension: Abdominal fat Depot Intervention Program of Okayama (ADIPO). *Diab Vasc Dis Res* 10(1), 93-96, 2013
11. Sato-Horiguchi C, Ogawa D, Wada J, Tachibana H, Koder R, Eguchi J, Nakatsuka A, Terami N, Shikata K, Makino H. Telmisartan attenuates diabetic nephropathy by suppressing oxidative stress in db/db mice. *Nephron Exp Nephrol* 121(3-4), e97-e108, 2013
12. Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Hida K, Eguchi J, Ogawa D, Matsuki Y, Hiramatsu R, Tagita H, Kakuta S, Iwakura Y, Makino H. Vaspin inhibits apoptosis of endothelial cells as a ligand for cell-surface GRP78/VDAC complex. *Circ Res* 112(5), 771-780, 2013
13. Kurose Y, Wada J, Kanzaki M, Teshigawara S, Nakatsuka A, Murakami K, Inoue K, Terami T, Katayama A, Watanabe M, Higushi C, Eguchi J, Miyatake N, Makino H. Serum galectin-9 levels are elevated in the patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 14, 23, 2013
14. Nakatsuka A, Wada J, Makino H. Cell cycle abnormality in metabolic syndrome and nuclear receptors as an emerging therapeutic target. *Acta Medica Okayama* 67(3), 129-134, 2013
15. Inoue K, Wada J, Eguchi J, Nakatsuka A, Teshigawara S, Murakami K, Ogawa D, Terami T, Katayama A, Tone A, Iseda I, Hida K, Yamada M, Ogawa T, Makino H. Urinary fetuin-A is a novel marker for diabetic nephropathy in type 2 diabetes identified by lectin microarray. *PLoS ONE* 8(10): e77118, 2013
16. Terami T, Wada J, Inoue K, Nakatsuka A, Ogawa D, Teshigawara S, Murakami K, Katayama A, Eguchi J, Makino H. Urinary angiotensinogen is a marker for tubular injuries in patients with type 2 diabetes. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 6, 233-240, 2013
17. Ogawa D, Eguchi J, Wada J, Terami N, Hatanaka T, Tachibana H, Nakatsuka A, Horiguchi CS, Nishii N, Makino H. Nuclear hormone receptor expression in mouse kidney and renal cell lines. *PLoS ONE* 9(1), e85594, 2014
18. Watanabe M, Nakatsuka A, Murakami K, Inoue K, Terami T, Higuchi C, Katayama A, Teshigawara S, Eguchi J, Ogawa D, Watanabe E, Wada J, Makino H. Pemt deficiency ameliorates endoplasmic reticulum stress in diabetic nephropathy. *PLoS ONE* 9(3), e92647, 2014
19. Miyoshi T, Nakamura K, Yoshida M, Miura D, Oe H, Akagi S, Sugiyama H, Akazawa K, Yonezawa T, Wada J and Ito H. Effect of vildagliptin, a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor, on cardiac hypertrophy induced by chronic beta-adrenergic stimulation in rats. *Cardiovascular Diabetology* 13:43, 2014
20. Terami N, Ogawa D, Tachibana H, Hatanaka T, Wada J, Nakatsuka A, 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. *PLoS ONE* 9(6), e100777, 2014.
21. Ono T, Shikata K, Obika M, Miyatake N, Koder R, Hirota D, Wada J, Kataoka H, Ogawa D, Makino H. Factors associated with remission and/or regression of microalbuminuria in type 2 diabetes mellitus. *Acta Med Okayama* 68(4), 235-241, 2014
22. Hishikawa N, Yamashita T, Deguchi K, Wada J, Shikata K, Makino H, Abe K. *Eur J Neurol* 2014 Sep 15. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

1. PEMT deficiency protects from obesity and insulin resistance, but induces severe steatohepatitis. シンポジウム3:慢性炎症とインスリン抵抗性 和田淳、中司敦子、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月17日
2. Identification of transmembrane proteins expressed in adipocytes under obese-state and the roles soluble forms in fat accumulation. Jun Wada, International Symposium for the Study of Obesity “Translational Science and Epidemiology on Adipomedicine; From Lipodystrophy to Obesity”, Oct 13-14, 2012, Shiran Kaikan of Kyoto University, Kyoto
3. ガレクチノミクス解析からグライコミクス解析へ 和田淳 平成24年度金沢大学戦略的研究推進プログラム - 次世代重点研究プログラム - 第2回シンポジウム 金沢市文化ホール(金沢市)平成24年9月14日
4. Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT) deficiency protects from obesity and insulin resistance but promote non-alcoholic steatohepatitis with tumorigenesis. Atsuko Nakatsuka, Jun Wada, Kazutoshi Murakami, Takahiro Terami, Akihiro Katayama, Jun Eguchi, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 29, 2013
5. The pathological role of galectin-9 in metabolic syndrome. Sanae Teshigawara, Jun Wada, Motoko Kanzaki, Kazutoshi Murakami, Akihiro Katayama, Takahiro Terami, Kentaro Inoue, Jun Eguchi, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 30, 2013
6. Soluble form of transmembrane protein, Gpnmb, is a novel adipokine with a protective role in fatty liver disease in obesity. Akihiro Katayama, Jun Wada, Atsuko Nakatsuka, Jun Eguchi, Kazutoshi Murakami, Motoko Kanzaki, Sanae Teshigawara, Takahiro Terami, Kentaro Inoue, Kazuyuki Hida, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 19, 2013
7. メタボリックシンドロームにおける Galectin-9 の機能解析 神崎資子、和田淳、中司敦子、村上和敏、勅使川原早苗、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、四方賢一、秋葉久弥、八木田秀雄、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月17日
8. メタボリックシンドロームにおける Gpnmb の意義 片山晶博、和田淳、中司敦子、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、肥田和之、四方賢一、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月17日
9. 糖尿病性腎症発症および病態進展における miR-34a の発現変化とその機能解析 高塚哲全、四方賢一、小寺亮、宮本聡、廣田大昌、梶谷展生、佐藤千景、小川大輔、和田淳、片岡仁美、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月17日
10. 早期糖尿病性腎症における Telmsartan の酸化作用の検討 佐藤千景、小川大輔、松下裕一、橋洋美、小寺亮、廣田大昌、宮本聡、梶谷展生、和田淳、四方賢一、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月17日
11. ACAM (adipocyte adhesion molecule)の脂肪分化とメタボリックシンドロームにおける意義 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、神崎資子、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月18日
12. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングの検討 井上謙太郎、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、勅使川原早苗、黒瀬祐子、片山晶博、樋口千草、渡邊真由、小川智優央、山田雅雄、四方賢一、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月19日
13. 2型糖尿病患者の腎症に関連する因子の横断的解析 小比賀美香子、四方賢一、小野哲一郎、梶谷展生、小寺亮、宮本聡、廣田大昌、村上和敏、佐藤千景、小川大輔、和田淳、片岡仁美、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月19日
14. メタボリック症候群におけるマクロファージ IRF4 (Interferon Regulatory Factor 4)の病態生理学的意義 江口潤、和田淳、榎野博史、Evan Rosen 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月19日
15. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyl transferase

- (PEMT)の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、四方賢一、槇野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月19日
16. PSGL-1を阻害することにより、肥満マウスにおける内臓脂肪と肝臓の炎症とインスリン抵抗性が改善される 廣田大昌、四方賢一、佐藤千景、高塚哲全、宮本聡、小寺亮、梶谷展生、小川大輔、和田淳、片岡仁美、和田淳、槇野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月19日
 17. 糖尿病性腎症モデルラットにおけるメタロチオネイン(metallothionein)の発現の検討 橋洋美、小川大輔、松下裕一、佐藤千景、和田淳、喜多村真治、前島洋平、四方賢一、槇野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月19日
 18. 2型糖尿病における腎症の発症および進展に關与する因子の解析 小野哲一郎、四方賢一、小比賀美香子、梶谷展生、小寺亮、宮本聡、廣田大昌、村上和敏、佐藤千景、小川大輔、和田淳、片岡仁美、槇野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月19日
 19. グライコー解析による糖尿病性腎症バイオマーカーの探索 井上謙太郎、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、黒瀬祐子、片山晶博、勅使川原早苗、樋口千草、渡邊真由、小川智優央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第55回日本腎臓学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年6月3日
 20. メタボリックシンドロームにおけるphosphatidylethanolamine N-methyl transferase(PEMT)の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、槇野博史 第33回日本肥満学会 ホテルグランビア京都(京都市)平成24年10月11日
 21. ACAM(adipocyte adhesion molecule)の脂肪分化と肥満症における意義 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、神崎資子、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、槇野博史 ホテルグランビア京都(京都市)平成24年10月12日
 22. メタボリックシンドロームにおける Gpnmbの意義 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、渡邊真由、樋口千草、肥田和之、四方賢一、槇野博史 ホテルグランビア京都(京都市)平成24年10月12日
 23. GWASで同定されたウエスト:ヒップ比關連SNPとCTで測定した内臓脂肪面積との關係 堀田紀久子、中田由夫、松尾友明、和田淳、小谷一晃、嶺尾郁夫、浜口和之、益崎裕章、船橋徹、宮崎滋、徳永勝人、山田研太郎、田中喜代次、花房俊昭、及川眞一、坂田利家、松澤佑次、中尾一和 第33回日本肥満学会 ホテルグランビア京都(京都市)平成24年10月12日
 24. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングによる新規バイオマーカーの同定(U-CARE研究) 和田淳、井上謙太郎、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、黒瀬祐子、片山晶博、樋口千草、渡邊真由、小川智央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第56回日本腎臓学会学術總會(東京)平成25年5月10日
 25. Vaspinによる小胞体ストレス制御と糖尿病性腎症の治療 中司敦子、和田淳、勅使川原早苗、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、江口潤、小川大輔、槇野博史 第56回日本腎臓学会学術總會(東京)平成25年5月10日
 26. 糖尿病性腎症におけるPEMT阻害の意義 中司敦子、和田淳、渡邊真由、勅使川原早苗、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、江口潤、小川大輔、槇野博史 第56回日本腎臓学会学術總會(東京)平成25年5月11日
 27. マウス腎および培養腎細胞における核内受容体の発現と高糖濃度刺激による発現変化の検討 寺見直人、小川大輔、橋洋美、堀口千景、小寺亮、江口潤、中司敦子、和田淳、四方賢一、槇野博史 第56回日本腎臓学会学術總會(東京)平成25年5月11日
 28. 嚢胞形成の新規分子機構-ACAM/CLMP欠損マウスの解析- 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、佐藤美和、寺見直人、小川大輔、槇野博史 第56回日本腎臓学会学術總會(東京)平成25年5月12日
 29. 内臓脂肪蓄積に伴って強発現する膜蛋白Gpnmbの脂肪肝炎抑制効果と可溶性分泌型の關与 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、渡邊真由、樋口千草、肥田和之、四方賢一、槇野博史 第56回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成25年5月16日

日

30. Vaspin inhibits apoptosis of endothelial cells as ligand for cell-surface GRP78/VDAC complex. J Wada, A Nakatsuka, S Teshigawara, K Murakami, T Terami, K Inoue, A Katayama, C Higuchi, M Watanabe, J Eguchi, H Makino. 第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成25年5月17日
31. メタボリックシンドロームにおける Galectin-9-Tim-3 経路の意義 勅使川原早苗、和田淳、神崎資子、江口潤、中司敦子、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、榎野博史 第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成25年5月17日
32. ACAM (adipocyte adhesion molecule) /CLMP の脂肪分化と肥満症における意義 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、榎野博史 第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成25年5月17日
33. 糖尿病マウス腎および高糖濃度刺激下での培養腎細胞における核内受容体の発現解析 寺見直人、小川大輔、橘洋美、堀口千景、小寺亮、江口潤、中司敦子、和田淳、四方賢一、榎野博史 第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成25年5月17日
34. 糖毒性患者にインスリン療法導入後、6ヶ月以内に離脱可能を推測させる導入前における内因性インスリン分泌能マーカーの検討 肥田和之、伊勢田泉、太田徹、林恭加、柴田祐助、利根淳仁 第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成25年5月17日
35. CSII を施行されている1型糖尿病患者の血糖コントロールに影響を与える因子について 利根淳仁、伊勢田泉、太田徹、林恭加、柴田祐助、真邊香江、藤原喜子、肥田和之 第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成25年5月17日
36. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングの検討 井上謙太郎、和田淳、小川大輔、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、勅使川原早苗、片山晶博、小川智央、山田雅雄、四方賢一、榎野博史 第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成25年5月18日
37. メタボリックシンドロームにおける脂肪組織由来血清 miRNA の同定 樋口千草、和田淳、中司敦子、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、渡邊真由、江口潤、榎野博史 第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成25年5月18日
38. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyltransferase(PEMT)の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、渡邊真由、樋口千草、江口潤、榎野博史 第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成25年5月18日
39. メタボリック症候群におけるアルブミン尿と炎症およびインスリン抵抗性についての検討 梶谷展生、四方賢一、石井啓太、平田教至、小寺亮、廣田大昌、和田淳、榎野博史 第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成25年5月18日
40. 当院におけるシタグリプチンの使用経験 重松照伸、宮下雄博、岡田震一、藤井総一郎、早川信彦、岡崎守宏 第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成25年5月18日
41. 高齢糖尿病患者におけるグリメピリドとシタグリプチン併用症例の検討 宮下雄博、早川信彦 第55回日本老年医学会学術集会（大阪）平成25年6月4日
42. Nuclear Hormone Receptor Expression in Mouse Kidney and Renal Cell Lines. D Ogawa, J Eguchi, H Tachibana, C Sato-Horiguchi, T Hatanaka, A Nakatsuka, J Wada, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 22, 2013
43. Phosphatidylethanolamine N-Methyltransferase (PEMT) Deficiency Protects from Obesity and Insulin Resistance but Promote Steatohepatitis with Tumorigenesis. A Nakatsuka, J Wada, K Murakami, T Terami, J Eguchi, D Ogawa, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 23, 2013
44. ACAM (Adipocyte Adhesion Molecule) / CLMP Inhibits Adipocyte Hypertrophy in Obesity. K Murakami, J Wada, J Eguchi, D Ogawa, T Terami, N Terami, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 23, 2013
45. 肥満において Pemt 欠損がもたらす脂肪肝炎とエピゲノム 中司敦子、和田淳、渡邊真由、樋口千草、天田雅文、布上朋和、片山晶博、寺見隆宏、勅使川原早苗、村上和敏、江口潤、榎野博史 第34回日本肥満学会年次学術集会（東京）平成25年10月12日
46. 内臓脂肪蓄積に伴って強発現する膜蛋白 Gpnmb の脂肪肝炎抑制効果と可溶性分泌型の関与 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、勅使川原早苗、寺見隆宏、樋口千草、布上朋和、天田雅文、四方賢一、肥田和之、榎野博史 第34回日本肥満学会年

次学術集会（東京）平成 25 年 10 月 12 日

- 47.
48. 高齢発症 1 型糖尿病患者の膵島関連抗体に関する分析 三小田亜希子、松岡孝、藤原大介、武川郷、鈴木貴博、高橋健二 第 25 回日本老年医学会中国地方会（岡山）平成 25 年 11 月 23 日肥満により脂肪組織に誘導される膜蛋白 Gpnmf の脂肪肝炎抑制効果 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、勅使川原 早苗、樋口千草、布上朋和、天田雅文、肥田 和之、榎野博史 第 57 回本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 22 日
49. 2 型糖尿病マウスにおける SGLT2 阻害薬ダパグリフロジンの腎保護効果の検討 小川大輔、寺見直人、畑中崇志、橘洋美、江口潤、中司敦子、和田淳、榎野博史 第 57 回本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 22 日
50. エクソーム解析を行った若年発症糖尿病の 1 例 布上朋和、江口潤、天田雅文、和田淳、四方賢一、榎野博史 第 57 回本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 23 日
51. 糖尿病腎症第 1 期および第 2 期における腎機能低下要因の解析 小比賀美香子、四方賢一、小野哲一郎、小寺亮、江口潤、廣田大昌、村上和敏、中司敦子、小川大輔、和田淳、片岡仁美、榎野博史 第 57 回本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 24 日
52. ACAM (adipocyte adhesion molecule) /CLMP の一次繊毛機能を介した脂肪細胞分化と肥満症における意義 村上和敏、和田淳、佐藤美和、江口潤、布上朋和、片山晶博、中司敦子、小川大輔、四方賢一、榎野博史 第 57 回本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 24 日
53. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT) の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、勅使川原 早苗、片山晶博、渡邊 真由、樋口千草、天田雅文、布上朋和、江口潤、小川大輔、榎野博史 第 57 回本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 24 日
54. ワークショップ 2 動物モデルを用いた NASH 病態解析 脂肪肝炎における Pemt の意義 中司敦子、松山誠、村上和敏、勅使川原早苗、江口潤、小川大輔、高木章乃夫、福島正樹、山本和秀、榎野博史、和田淳 第 1 回肝臓と糖尿病・代謝研究会（東京）平成 26 年 7 月 4 日
55. 早期糖尿病性腎症患者における尿中 TFF3 (Urinary Trefoil Factor 3) と尿中アルブミンの関連についての検討 寺見直人、小川大輔、山成俊夫、杉山斉、畑中崇志、和田淳、四方賢一、西井尚子、榎野博史 第 57 回日本腎臓学会総会（横浜）平成 26 年 7 月 4 日
56. 顕性蛋白尿期の 2 型糖尿病患者におけるアルダクトンの蛋白尿減少効果 加藤佐和子、丸山彰一、榎野博史、和田淳、宇津貴、荒木久澄、古家大祐、金崎啓造、西山成、今井圓裕、安藤昌彦 第 57 回日本腎臓学会総会（横浜）平成 26 年 7 月 5 日
57. ワークショップ 2 ネフローゼ症候群を呈する疾患の最新の診断・治療 レクチンマイクロアレイによる糖尿病性腎症の新規バイオマーカーの同定 和田淳、勅使河原早苗、中司敦子、江口潤 第 44 回日本腎臓学会西部学術集会（神戸）平成 26 年 10 月 3 日
58. 早期糖尿病性腎症におけるバイオマーカーとしての尿中 TFF (Trefoil factor) の検討 寺見直人、小川大輔、畑中崇志、山成俊夫、杉山斉、四方賢一、榎野博史、和田淳 日本糖尿病学会中国四国地方会第 52 回総会（広島）平成 26 年 10 月 24 日
59. メタボリックシンドロームにおける脂肪組織と骨格筋の機能異常を制御する新規因子の探索 天田雅文、江口潤、柴田祐助、布上朋和、片山晶博、勅使河原早苗、村上和敏、中司敦子、和田淳 第 35 回日本肥満学会（宮崎）平成 26 年 10 月 25 日
60. メタボリックシンドロームに伴う脂肪肝炎と Pemt の意義 中司敦子、村上和敏、勅使河原早苗、片山晶博、布上朋和、天田雅文、山口哲史、江口潤、和田淳 第 35 回日本肥満学会（宮崎）平成 26 年 10 月 25 日
61. メタボリックシンドロームにおける Galectin-9 の意義 布上朋和、勅使河原早苗、柴田祐助、天田雅文、片山晶博、村上和敏、江口潤、中司敦子、和田淳 第 35 回日本肥満学会（宮崎）平成 26 年 10 月 25 日
62. 脂肪細胞における接着とアクチン重合を介した ACAM の抗肥満作用 村上和敏、江口潤、中司敦子、和田淳 第 35 回日本肥満学会（宮崎）平成 26 年 10 月 25 日

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

图1 糖尿病性腎症

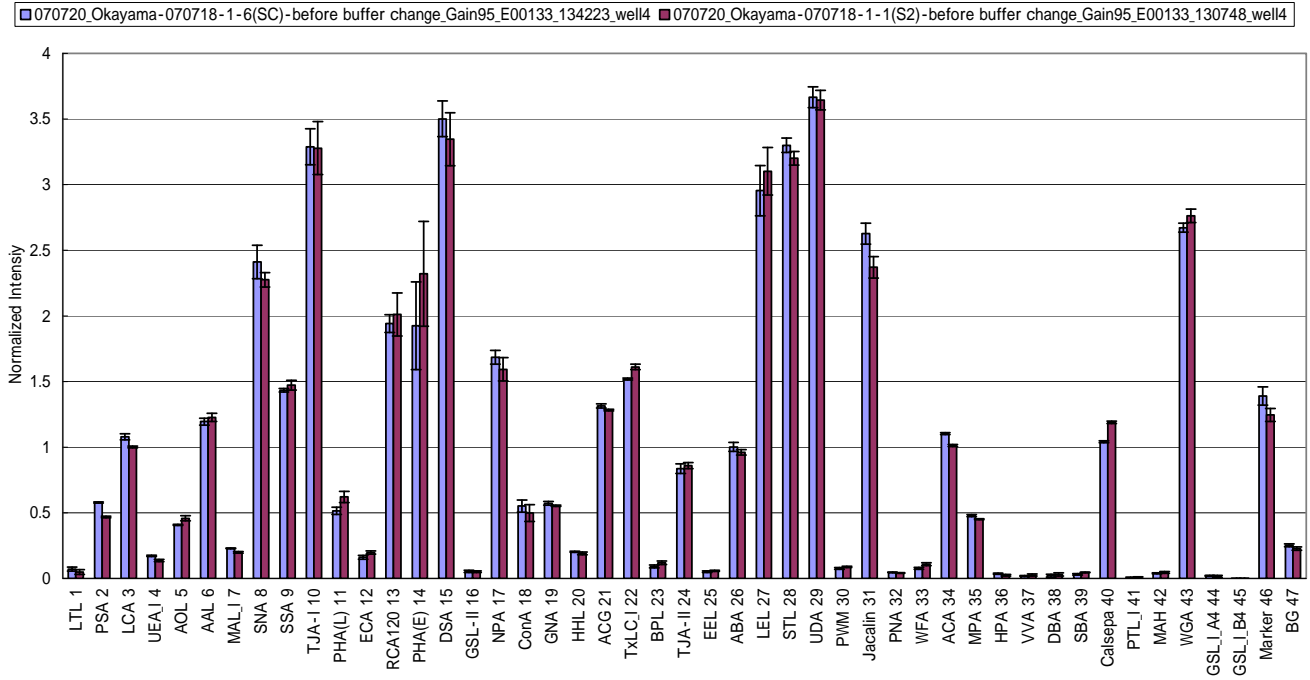
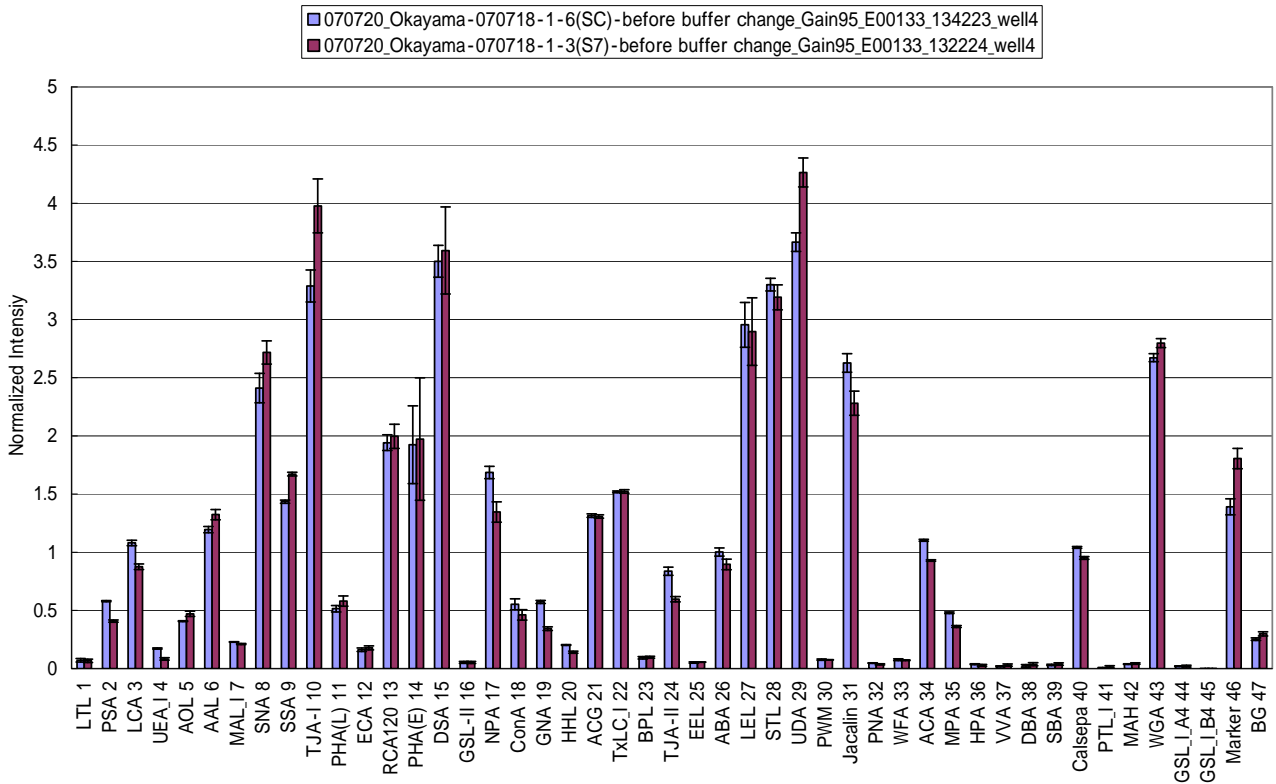


图2 膜性腎症



3 I g A 腎症

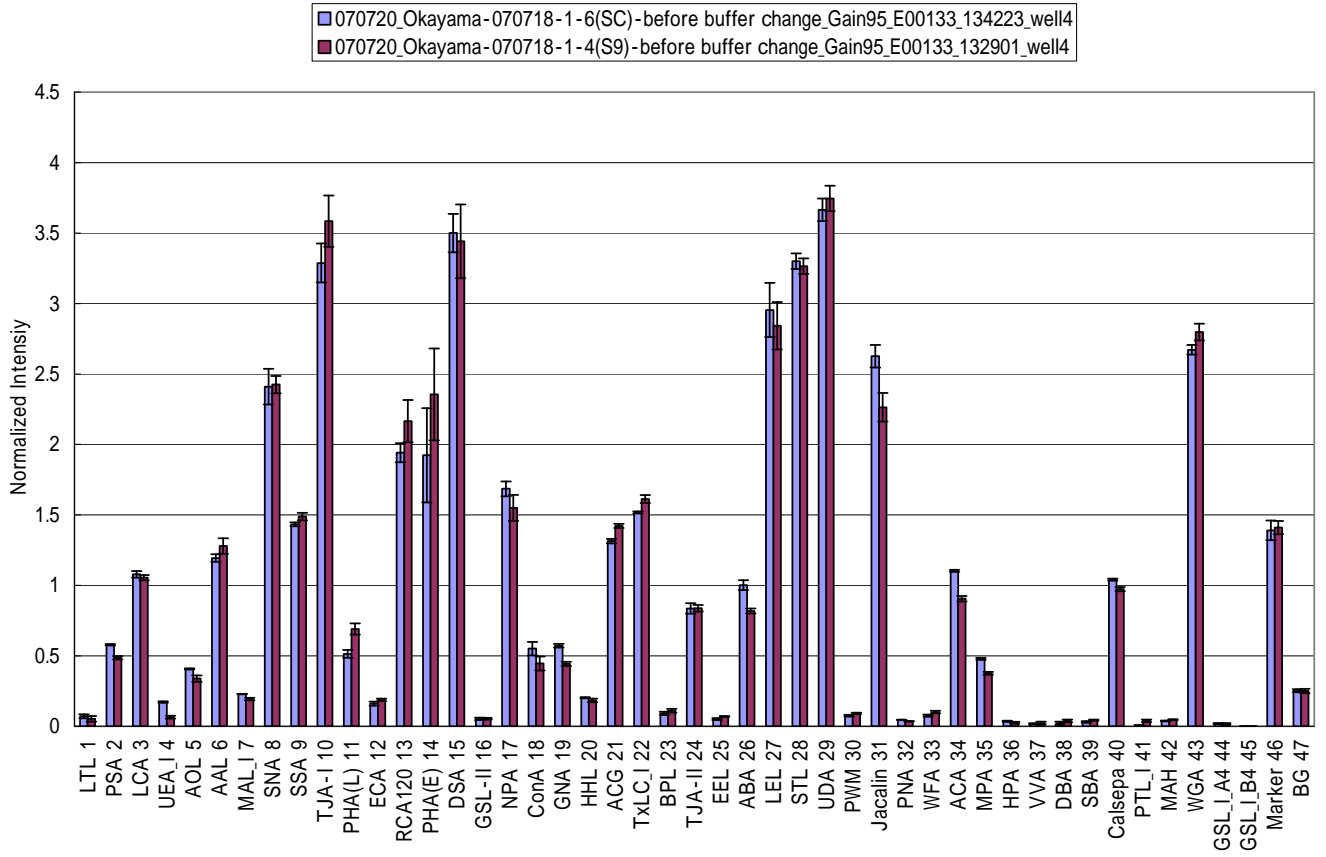


図4 血清レクチンアレイ解析 (赤：腎硬化症、青：糖尿病性腎症、緑：膜性腎症)

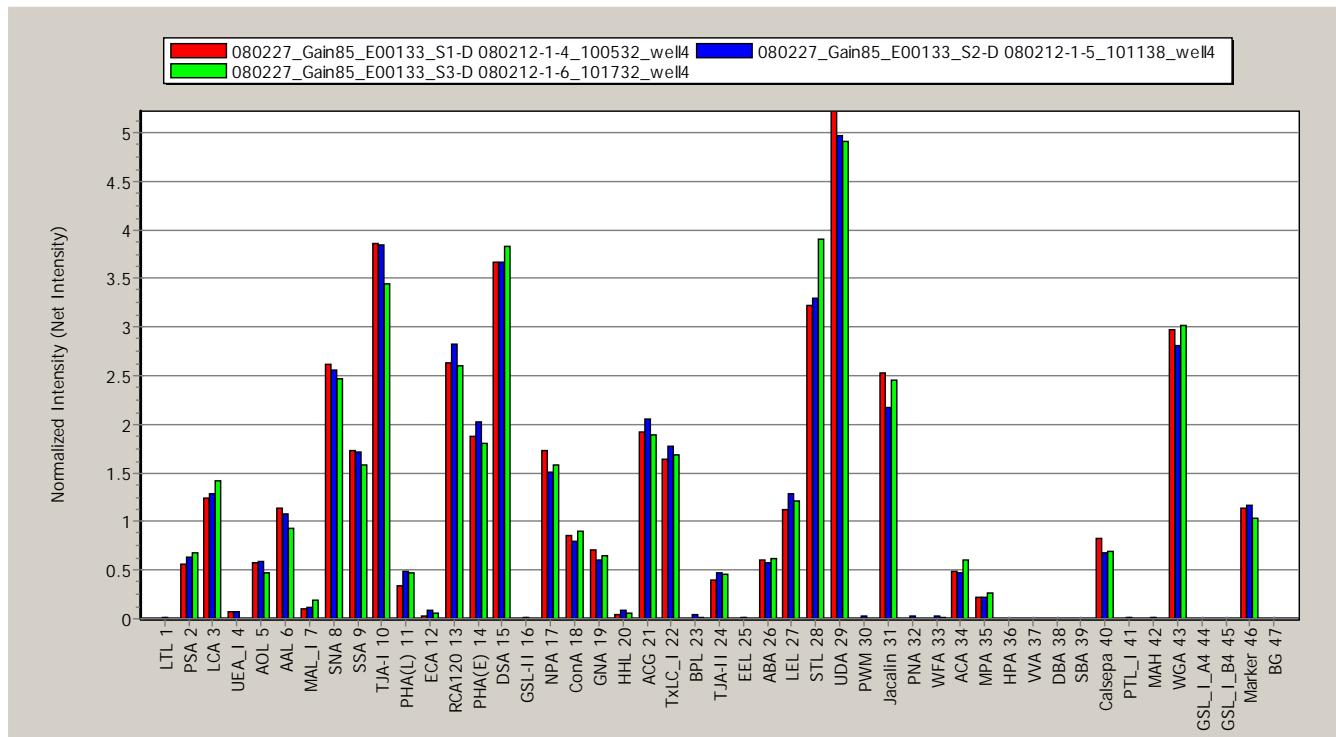
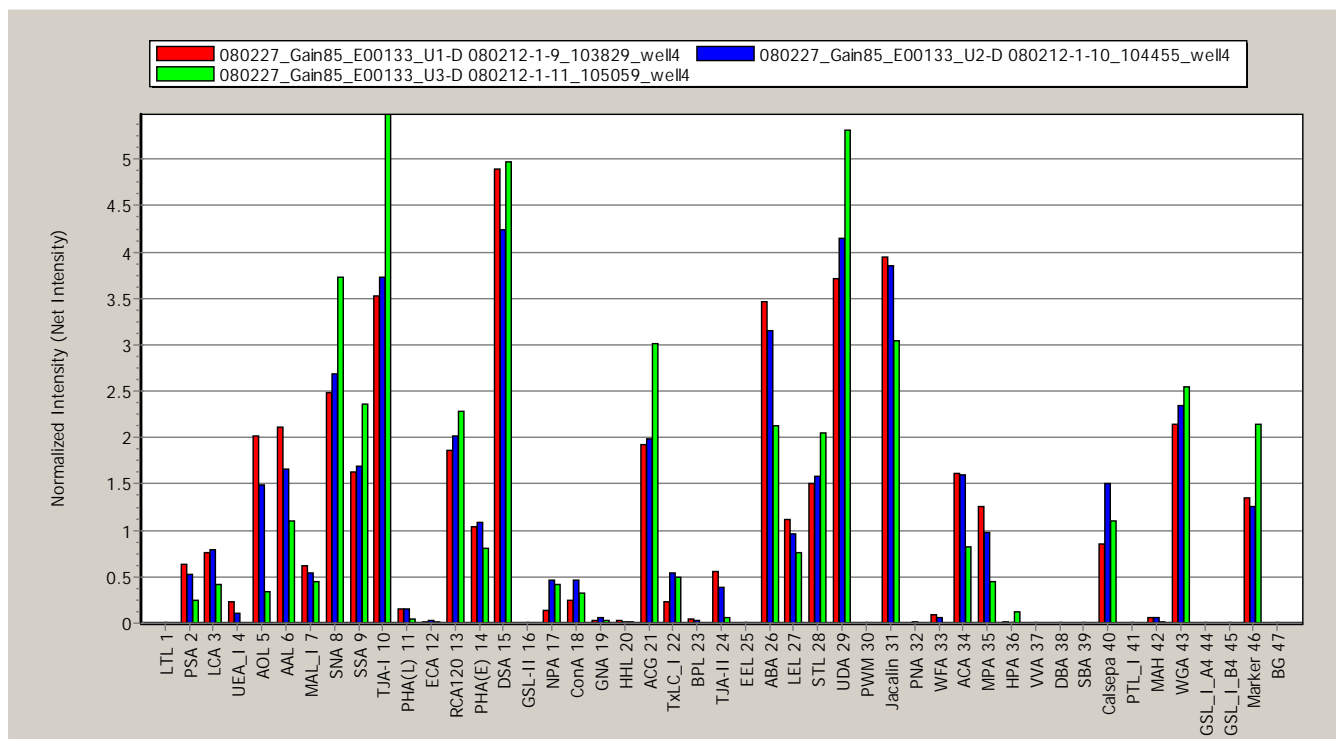


図5 尿レクチンアレイ解析 (赤：腎硬化症、青：糖尿病性腎症、緑：膜性腎症)



2. 尿サンプルのレクチンアレイ解析による新規バイオマーカーの同定

研究分担者

中司敦子・岡山大学病院・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教

江口潤・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教

勅使川原早苗・岡山大学院医歯薬学総合研究科・地域医療人材育成講座・助教

利根淳仁(岡山大学病院・糖尿病センター・助教)

肥田和之・独立行政法人国立病院機構岡山医療センター・糖尿病・代謝内科・医長

伊勢田泉・独立行政法人国立病院機構岡山医療センター・糖尿病・代謝内科・常勤医

和田淳・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・准教授

研究要旨

尿サンプルを用いたレクチンマイクロアレイ(GlycoStation™, LecChip™)を、健常者(n=12)、糖尿病性腎症正常アルブミン尿期(n=7)、微量アルブミン尿期(n=5)、顕性蛋白尿期(n=5)の患者において施行し、糖鎖プロファイルについて比較検討を行った。フコース関連レクチン、ハイマンノース関連レクチンなど多くのレクチンで腎症の進展にともないシグナルが低下する傾向が認められた。N型糖鎖関連レクチン(RCA120, PHA(E), DSA)では、2期にシグナルが増加し、さらに進行すると低下する傾向が認められた。 α 2-3シアル酸(MAL-1)および α 2-6シアル酸関連レクチン(SNA, SSA, TJA-1)では、腎症の進展とともにシグナルが増加する傾向が認められた。SSAレクチンカラムによるアフィニティークロマトグラフィーによって得られた糖蛋白質を同定したところ、haptoglobin, α 2-macroglobulin, apolipoprotein A-I, protein AMBP(α 1-microglobulin), ceruloplasmin, α 1-acid glycoprotein (orosomucoid), α 2-HS-glycoprotein (fetuin-A), angiotensinogenなどが得られた。これらの糖蛋白質にはシアル酸を糖鎖として有するもの同定されており、これらは糖尿病性腎症の新規尿中バイオマーカーであることが想定される。

研究分担者

江口潤(岡山大学病院・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教)、中司敦子(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・糖尿病性腎症治療学講座・助教)、勅使川原早苗(岡山大学院医歯薬学総合研究科・地域医療人材育成講座・助教)

A. 研究目的

尿サンプルを用いたレクチンマイクロアレイ(GlycoStation™, LecChip™)を、健常者(n=12)、糖尿病性腎症正常アルブミン尿期(n=7)、微量アルブミン尿期(n=5)、顕性蛋白尿期(n=5)の患者において施行し、糖鎖プロファイルについて比較検討を行った。さらに腎症の進行によって結合性の増加が認められたレクチンであるSSAレクチンを用いたカラムによって糖蛋白質を精製し、さらに質量解析によって新規バイオマーカーの候補を同定する。

B. 研究方法

尿の前処置

尿は50 mLをセントリコンで5000g・40分、さら

にMicroconで14,000g・70分遠心して約100倍に濃縮した。濃縮した尿10 μ Lをそれぞれヒト血清用アフィニティ除去スピニングカートリッジ(Agilent Technologies)にアプライして処理を行い、albumin, IgG, α 1-antitrypsin, IgA, transferrin, haptoglobinの6種類の主要蛋白質を除去した。この6種類で総蛋白質の85-90%を占めている。

バッファー交換と濃縮

ヒト血清用アフィニティ除去スピニングカートリッジで最終的に用いる溶出バッファーからPBSへとバッファー交換を行った。溶出バッファーには第1級アミンが含まれており、Cy3標識の際に標識効率が低下してしまうためである。また凍結後サンプルに凝集(沈殿)が生じることが判明し、バッファー交換によって沈殿が回避できることが判明した。ULTRAFREE0.5 BIOMAX-5k(Millipore)にサンプル500 μ Lをアプライして、10倍濃縮を2回行い、最終的には50 μ Lに調整した。調整した最終サンプルは20倍希釈してMicroBCA Protein Assay Kit(PIERCE)を用いて蛋白定量を行った。

Cy3標識およびレクチンアレイ解析

蛋白定量の結果をもとに、すべてのサンプルを50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に調整し、うち20 μg をCy3 (100 μg 蛋白標識用)と混合して室温、暗所にて1時間反応させた。Cy3標識したサンプルをゲル濾過 (Zeba Desalt Spin Columns 0.5 mL, PIRECE)して未反応のCy3を除き、回収された蛋白量を1 μg として、Probing Bufferにて2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.063, 0.031 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の溶液を調整した。それぞれのサンプル各100 μL (1ウエルあたり)をレクチンアレイ(LecChip)にアプライして、20分、暗所にて15時間反応させた。レクチンアレイ上のレクチンのリストは表1に提示した。

LecChipの測定はGlycoStationTMReader1200によって行った。測定条件は露光時間133 msec, Gain 85, 95, 105, 115とした。測定して得られたスキャン画像(16 bit TIFF)をArray-PtoTMAnalyzerによって数値化して専用解析ソフトGlycoStation Toolsを用いて解析を施行した。

SSAレクチンカラムクロマトグラフィー

尿サンプルは100 mLをCentriconで5000g・40分、さらにMicroconで14,000g・70分遠心して約100倍に濃縮した。SSAカラムを用いたアフィニティークロマトグラフィー (Lectin-Agarose Set-III, SSA-Agarose) を BioLogic LP システム II (#731-8300X2, BIO-RAD)を用いて施行した。まず6.0 mLのPBSを0.2 mL/minの速度で30分間平衡化を行った。次に尿サンプル1.0 mLをサンプルループにアプライして0.1 mL/minの速度で10分間かけてPBSによってサンプルをロードした。さらにPBSを0.1 mL/minの速度でPBS 7.0 mLを70分間かけて洗浄を行った。さらにサンプルループに溶出バッファー5.0 mL (0.2M lactose)をアプライしてPBSを0.1 mL/minの流量で60分間かけて溶出した。さらに0.5 mL/minの速度で10.0 mLのPBSを用いて洗浄を行った。溶出の過程で溶出サンプルを5分毎にフラクションコレクターで0.5 mL毎に分注し、洗浄過程では10分毎にフラクションコレクターで1.0 mL毎に分注した。さらに溶出サンプルをSDS-PAGEで展開して解析した。

酵素消化および質量分析

SSAレクチンカラムによるアフィニティークロマトグラフィーによって得られた蛋白質をジチオスレイトール(DTT)およびヨードアセトアミド(IAA)によって還元処理した後に、0.1 μg のシークエンシンググレードのトリプシンで酵素消化(30分、一晚)を実施した。消化後に50%アセトニトリル5%蟻酸溶液でペプチドを抽出した。抽出されたペプチドを nanoUPLC

(nanoACQUITY UPLC, ウォーターズ社)、Q-ToF micro (ウォーターズ社)を用いて解析した。UPLC条件としてはトラップカラム(5.0 μm Symmetry C18, 180 $\mu\text{mID} \times 2 \text{ cm}$, S/N 0258110472D108)、カラム (1.7 μm BEH 130 C18, 100 $\mu\text{mID} \times 10 \text{ cm}$, S/N 0193110811A119)を用いてカラム温度は30とした。移動相としてはA液:水0.1%蟻酸、B液:アセトニトリル0.1%蟻酸を用いた。流速は400 nL/minで施行した。質量分析はMasslynx ソフトウェア(マイクロマス社)のサーベイモードで行った。

データベース検索

MS/MS 解析により得られたデータは、MassLynx (マイクロマス社)によりデコンボリューション処理を行った。得られたピークリストファイル(.pklファイル)に対して、Mascot (マトリックスサイエンス社)を用いて、NCBI nrおよびSwiss-Protの最新のデータベース内で一致する蛋白質の検索を行った。修飾に関する検索条件は、システイン残基のカルバミドメチル化とメチオニンの酸化を標準とした。

C. 研究結果

糖尿病性腎症の各病期におけるレクチンアレイ解析の結果を図1に示した。蛋白濃度250 ng/mLをGain 95で測定したシグナルで比較を行った。青が健常者コントロールシグナルを表している。健常者と患者のサンプルのシグナルの平均値が1となるように規格化を施行してグラフ化している。病期の進行によってシグナルが増加しているレクチンと、シグナルがほぼ同じかまたは低下しているレクチンに分類できた。フコース関連レクチン、ハイマンノース関連レクチンなど多くのレクチンで腎症の進展にともないシグナルが低下する傾向が認められた。N型糖鎖関連レクチン(RCA120, PHA(E), DSA)では、2期にシグナルが増加し、さらに進行すると低下する傾向が認められた。 α 2-3シアル酸 (MAL-1) および α 2-6シアル酸関連レクチン (SNA, SSA, TJA-1) では、腎症の進展とともにシグナルが増加する傾向が認められた。

SSAレクチンカラムによるアフィニティークロマトグラフィーによって得られた蛋白質をSDS-PAGEに展開したところ、 α 2-6シアル酸を認識するSSAカラムで精製された複数の糖蛋白質が、糖尿病性腎症の進行に伴って増加しており、病期による変化が認められた(図2)。質量解析の結果表2・表3に示すような糖蛋白質

が同定された。トップにランクされるアルブミンは糖鎖を有さないことと、尿中に最も多く存在する蛋白質であることからコンタミネーションと考えられた。その他には免疫グロブリン(Ig gamma-1 chain C region, Ig gamma-2 chain C region, Ig alpha-1 chain C region, Ig lambda-2 chain C regions)・補体コンポーネント(Complement C4-A, Plasma protease C1 inhibitor, Complement C3)・凝固系因子(Antithrombin-III, Prothrombin)などのフラグメントが得られた。その他同定されたものとしては、haptoglobin, α 2-macroglobulin, apolipoprotein A-I, protein AMBP (α 1-microglobulin), ceruloplasmin, α 1-acid glycoprotein (orosomucoid), α 2-HS-glycoprotein (fetuin-A), angiotensinogenなどがある。これらの糖蛋白質にはシアル酸を糖鎖として有する糖蛋白質が同定されており、これらは糖尿病性腎症の新規尿中バイオマーカーであることが想定される。

D . 考察

尿サンプルを用いたレクチンマイクロアレイを施行したところ、糖尿病性腎症の病期の進行に伴って特徴的な糖鎖プロファイルの変化が同定できた。フコース関連レクチン、ハイマンノース関連レクチンのシグナルは病期の進行に伴い低下し、 α 2-3シアル酸 (MAL-1) および α 2-6シアル酸関連レクチン (SNA, SSA, TJA-1) では、腎症の進展とともにシグナルが増加する傾向が認められた。またN型糖鎖関連レクチン(RCA120, PHA(E), DSA)では、2期にシグナルが増加し特徴的な経過を示した。

糖尿病性腎症の尿サンプルのレクチンアレイ解析では、 α 2-6シアル酸関連レクチンへの結合性が、腎症の進展に従って上昇した。そこでSSAカラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーを用いて、糖蛋白質を精製したところ、複数の糖蛋白質が病期の進展に従って増加していることが判明した。これらの糖蛋白質は糖尿病性腎症の新しい尿中バイオマーカーの候補であると考えられる。

E . 結論

レクチンマイクロアレイによる糖鎖プロファイルにおいては、血清サンプルより尿サンプルの解析の方が、疾患特異的な変化が見出される可能性が高い。糖尿病性腎症の新規バイオマーカーとしては、haptoglobin, α 2-macroglobulin, apolipoprotein A-I, protein AMBP (α 1-microglobulin), ceruloplasmin, α 1-acid glycoprotein (orosomucoid), α 2-HS-glycoprotein (fetuin-A), angiotensinogenが、その候補として今

後検討すべきであると考えられた。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Nakatsuka A, Wada J, Hida K, Hida A, Eguchi J, Teshigawara S, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Ogawa D, Kagechika H, Makino H. RXR antagonism induces G0/G1 cell cycle arrest and ameliorates obesity by up-regulating the p53-p21^{Cip1} pathway in adipocytes. *J Pathol* 226(5), 784-795, 2012
2. Teshigawara S, Wada J, Hida K, Nakatsuka A, Eguchi J, Murakami K, Kanzaki M, Inoe K, Terami T, Katayama A, Iseda I, Matsushita Y, Miyatake N, McDonald JF, Hotta K, Makino H. Serum vaspin concentrations are closely related to insulin resistance and rs77060950 at SERPINA12 genetically defines distinct group with higher serum levels in Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 97(7), E1202-1207, 2012
3. Kawai D, Takaki A, Nakatsuka A, Wada J, Tamaki N, Yasunaka T, Koike K, Tsuzaki R, Matsumoto K, Miyake Y, Shiraha H, Morita M, Makino H, Yamamoto K. Hydrogen-rich water prevents progression of non-alcoholic steatohepatitis and accompanying hepatocarcinogenesis in mice. *Hepatology* 56(3), 912-921, 2012
4. Kanzaki M, Wada J, Kikumoto Y, Akagi S, Nakao K, Sugiyama H, Makino H. The therapeutic potential of synthetic human atrial natriuretic peptide in nephrotic syndrome: a randomized controlled trial. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 5, 91-96, 2012
5. Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Hida K, Eguchi J, Horiguchi CS, Ogawa D, Matsuki Y, Hiramatsu R, Yagita H, Kakuta S, Iwakura Y, Makino H. Vaspin is an adipokine ameliorating ER stress in obesity as a ligand for cell-surface GRP78/MTJ-1 complex. *Diabetes* 61(11), 2823-2832, 2012
6. Tachibana H, Ogawa D, Matsushita Y, Bruemmer D, Wada J, Teshigawara S, Eguchi J, Sato-Horiguchi C, Uchida HA, Shikata K, Makino H. Activation of liver x receptor inhibits osteopontin and ameliorates diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 23(11), 1835-1846, 2012
7. Inoue J, Wada J, Teshigawara S, Hida K, Nakatsuka A, Takatori U, Kojo S, Akagi S,

- Nakao K, Miyatake N, McDonald JF, Makino H. The serum vaspin levels are reduced in Japanese chronic hemodialysis patients. *BMC Nephrol* 13(1), 163, 2012
8. Wada J and Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Clin Sci* 124(3), 139-152, 2013
 9. Sugiyama K, Sada KE, Kurosawa M, Wada J, Makino H. Current status of the treatment of microscopic polyangiitis and granulomatosis with polyangiitis in Japan. *Clin Exp Nephrol* 17(1), 51-58, 2013
 10. Murakami K, Wada J, Ogawa D, Horiguchi CS, Miyoshi T, Sasaki M, Uchida HA, Nakamura Y, Makino H. The effects of telmisartan treatment on the abdominal fat depot in patients with metabolic syndrome and essential hypertension: Abdominal fat Depot Intervention Program of Okayama (ADIPO). *Diab Vasc Dis Res* 10(1), 93-96, 2013
 11. Sato-Horiguchi C, Ogawa D, Wada J, Tachibana H, Kodera R, Eguchi J, Nakatsuka A, Terami N, Shikata K, Makino H. Telmisartan attenuates diabetic nephropathy by suppressing oxidative stress in db/db mice. *Nephron Exp Nephrol* 121(3-4), e97-e108, 2013
 12. Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Hida K, Eguchi J, Ogawa D, Matsuki Y, Hiramatsu R, Tagita H, Kakuta S, Iwakura Y, Makino H. Vaspin inhibits apoptosis of endothelial cells as a ligand for cell-surface GRP78/VDAC complex. *Circ Res* 112(5), 771-780, 2013
 13. Kurose Y, Wada J, Kanzaki M, Teshigawara S, Nakatsuka A, Murakami K, Inoue K, Terami T, Katayama A, Watanabe M, Higuchi C, Eguchi J, Miyatake N, Makino H. Serum galectin-9 levels are elevated in the patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 14, 23, 2013
 14. Nakatsuka A, Wada J, Makino H. Cell cycle abnormality in metabolic syndrome and nuclear receptors as an emerging therapeutic target. *Acta Medica Okayama* 67(3), 129-134, 2013
 15. Inoue K, Wada J, Eguchi J, Nakatsuka A, Teshigawara S, Murakami K, Ogawa D, Terami T, Katayama A, Tone A, Iseda I, Hida K, Yamada M, Ogawa T, Makino H. Urinary fetuin-A is a novel marker for diabetic nephropathy in type 2 diabetes identified by lectin microarray. *PLoS ONE* 8(10): e77118, 2013
 16. Terami T, Wada J, Inoue K, Nakatsuka A, Ogawa D, Teshigawara S, Murakami K, Katayama A, Eguchi J, Makino H. Urinary angiotensinogen is a marker for tubular injuries in patients with type 2 diabetes. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 6, 233-240, 2013
 17. Ogawa D, Eguchi J, Wada J, Terami N, Hatanaka T, Tachibana H, Nakatsuka A, Horiguchi CS, Nishii N, Makino H. Nuclear hormone receptor expression in mouse kidney and renal cell lines. *PLoS ONE* 9(1), e85594, 2014
 18. Watanabe M, Nakatsuka A, Murakami K, Inoue K, Terami T, Higuchi C, Katayama A, Teshigawara S, Eguchi J, Ogawa D, Watanabe E, Wada J, Makino H. Pemt deficiency ameliorates endoplasmic reticulum stress in diabetic nephropathy. *PLoS ONE* 9(3), e92647, 2014
 19. Miyoshi T, Nakamura K, Yoshida M, Miura D, Oe H, Akagi S, Sugiyama H, Akazawa K, Yonezawa T, Wada J and Ito H. Effect of vildagliptin, a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor, on cardiac hypertrophy induced by chronic beta-adrenergic stimulation in rats. *Cardiovascular Diabetology* 13:43, 2014
 20. Terami N, Ogawa D, Tachibana H, Hatanaka T, Wada J, Nakatsuka A, 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. *PLoS ONE* 9(6), e100777, 2014.
 21. Ono T, Shikata K, Obika M, Miyatake N, Kodera R, Hirota D, Wada J, Kataoka H, Ogawa D, Makino H. Factors associated with remission and/or regression of microalbuminuria in type 2 diabetes mellitus. *Acta Med Okayama* 68(4), 235-241, 2014
 22. Hishikawa N, Yamashita T, Deguchi K, Wada J, Shikata K, Makino H, Abe K. *Eur J Neurol* 2014 Sep 15. [Epub ahead of print]
- ## 2. 学会発表
1. PEMT deficiency protects from obesity and insulin resistance, but induces severe steathepatitis. シンポジウム3：慢性炎症とインスリン抵抗性 和田淳、中司敦子、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成24年5月17日
 2. Identification of transmembrane proteins expressed in adipocytes under obese-state and the roles soluble forms in fat accumulation. Jun Wada, International Symposium for the Study of Obesity “Translational Science and Epidemiology on Adipomedicine; From Lipodystrophy to Obesity”, Oct 13-14, 2012, Shiran Kaikan of Kyoto University, Kyoto
 3. ガレクチノミクス解析からグライコミクス

解析へ 和田淳 平成 24 年度金沢大学戦略的研究推進プログラム - 次世代重点研究プログラム - 第 2 回シンポジウム 金沢市文化ホール (金沢市) 平成 24 年 9 月 14 日

4. Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT) deficiency protects from obesity and insulin resistance but promote non-alcoholic steatohepatitis with tumorigenesis. Atsuko Nakatsuka, Jun Wada, Kazutoshi Murakami, Takahiro Terami, Akihiro Katayama, Jun Eguchi, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 29, 2013
5. The pathological role of galectin-9 in metabolic syndrome. Sanae Teshigawara, Jun Wada, Motoko Kanzaki, Kazutoshi Murakami, Akihiro Katayama, Takahiro Terami, Kentaro Inoue, Jun Eguchi, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 30, 2013
6. Somuble form of transmembrane protein, Gpnmb, is a novel adipokine with a protective role in fatty liver disease in obesity. Akihiro Katayama, Jun Wada, Atsuko Nakatsuka, Jun Eguchi, Kazutoshi Murakami, Motoko Kanzaki, Sanae Teshigawara, Takahiro Terami, Kentaro Inoue, Kazuyuki Hida, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 19, 2013
7. メタボリックシンドロームにおける Galectin-9 の機能解析神崎資子、和田淳、中司敦子、村上和敏、勅使川原早苗、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、四方賢一、秋葉久弥、八木田秀雄、榎野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜 (横浜市) 平成 24 年 5 月 17 日
8. メタボリックシンドロームにおける Gpnmb の意義 片山晶博、和田淳、中司敦子、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、肥田和之、四方賢一、榎野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜 (横浜市) 平成 24 年 5 月 17 日
9. 糖尿病性腎症発症および病態進展における miR-34a の発現変化とその機能解析高塚哲全、四方賢一、小寺亮、宮本聡、廣田大昌、梶谷展生、佐藤千景、小川大輔、和田淳、片岡仁美、榎野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜 (横浜市) 平成 24 年 5 月 17 日
10. 早期糖尿病性腎症における Telmsartan の抗酸化作用の検討佐藤千景、小川大輔、松下裕一、橘洋美、小寺亮、廣田大昌、宮本聡、梶谷展生、和田淳、四方賢一、榎野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜 (横浜市) 平成 24 年 5 月 17 日
11. ACAM (adipocyte adhesion molecule) の脂肪分化とメタボリックシンドロームにおける意義 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、神崎資子、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、榎野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜 (横浜市) 平成 24 年 5 月 18 日
12. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングの検討 井上謙太郎、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、勅使川原早苗、黒瀬祐子、片山晶博、樋口千草、渡邊真由、小川智優央、山田雅雄、四方賢一、榎野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜 (横浜市) 平成 24 年 5 月 19 日
13. 2 型糖尿病患者の腎症に関連する因子の横断的解析 小比賀美香子、四方賢一、小野哲一郎、梶谷展生、小寺亮、宮本聡、廣田大昌、村上和敏、佐藤千景、小川大輔、和田淳、片岡仁美、榎野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜 (横浜市) 平成 24 年 5 月 19 日
14. メタボリック症候群におけるマクロファージ IRF4 (Interferon Regulatory Factor 4) の病態生理学的意義 江口潤、和田淳、榎野博史、Evan Rosen 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜 (横浜市) 平成 24 年 5 月 19 日
15. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyl transferase (PEMT) の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、四方賢一、榎野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜 (横浜市) 平成 24 年 5 月 19 日
16. PSGL-1 を阻害することにより、肥満マウスにおける内臓脂肪と肝臓の炎症とインスリン抵抗性が改善される 廣田大昌、四方賢一、佐藤千景、高塚哲全、宮本聡、小寺亮、梶谷展生、小川大輔、和田淳、片岡仁美、和田淳、榎野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜 (横浜市) 平成 24 年 5 月 19 日
17. 糖尿病性腎症モデルラットにおけるメタロチオネイン (metallothionein) の発現の検討 橘洋美、小川大輔、松下裕一、佐藤千景、和

- 田淳、喜多村真治、前島洋平、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
18. 2 型糖尿病における腎症の発症および進展に
関与する因子の解析 小野哲一郎、四方賢一、
小比賀美香子、梶谷展生、小寺亮、宮本聡、
廣田大昌、村上和敏、佐藤千景、小川大輔、
和田淳、片岡仁美、槇野博史 第 55 回日本
糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（
横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 19. グライコーン解析による糖尿病性腎症バイ
オマーカーの探索 井上謙太郎、和田淳、中
司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見
隆宏、黒瀬祐子、片山晶博、勅使川原早苗、
樋口千草、渡邊真由、小川智優央、山田雅雄、
四方賢一、槇野博史 第 55 回日本腎臓学会
年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平
成 24 年 6 月 3 日
 20. メタボリックシンドロームにおける
phosphatidylethanolamine N-methyl transferase
(PEMT)の意義 中司敦子、和田淳、村上和
敏、神崎資子、勅使川原早苗、井上謙太郎、
寺見隆宏、片山晶博、槇野博史 第 33 回日
本肥満学会 ホテルグランビア京都（京都市）
平成 24 年 10 月 11 日
 21. ACAM (adipocyte adhesion molecule)の脂肪分
化と肥満症における意義 村上和敏、和田淳、
江口潤、中司敦子、神崎資子、寺見隆宏、井
上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、槇野博
史 ホテルグランビア京都（京都市）平成
24 年 10 月 12 日
 22. メタボリックシンドロームにおける Gpnmb
の意義 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口
潤、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、井
上謙太郎、寺見隆宏、渡邊真由、樋口千草、
肥田和之、四方賢一、槇野博史 ホテルグラ
ンビア京都（京都市）平成 24 年 10 月 12 日
 23. GWAS で同定されたウエスト：ヒップ比関
連 SNP と CT で測定した内臓脂肪面積との
関係 堀田紀久子、中田由夫、松尾友明、和
田淳、小谷一晃、嶺尾郁夫、浜口和之、益崎
裕章、船橋徹、宮崎滋、徳永勝人、山田研太
郎、田中喜代次、花房俊昭、及川眞一、坂田
利家、松澤佑次、中尾一和 第 33 回日本肥
満学会 ホテルグランビア京都（京都市）平
成 24 年 10 月 12 日
 24. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングによ
る新規バイオマーカーの同定(U-CARE 研
究) 和田淳、井上謙太郎、中司敦子、江口
潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、黒瀬祐
子、片山晶博、樋口千草、渡邊真由、小川智
央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 56
回日本腎臓学会学術総会（東京）平成 25 年
5 月 10 日
 25. Vaspin による小胞体ストレス制御と糖尿病
性腎症の治療 中司敦子、和田淳、勅使川原
早苗、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片
山晶博、江口潤、小川大輔、槇野博史 第
56 回日本腎臓学会学術総会（東京）平成
25 年 5 月 10 日
 26. 糖尿病性腎症における PEMT 阻害の意義
中司敦子、和田淳、渡邊真由、勅使川原早苗、
村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、
江口潤、小川大輔、槇野博史 第 56 回日本
腎臓学会学術総会（東京）平成 25 年 5 月
11 日
 27. マウス腎および培養腎細胞における核内受
容体の発現と高糖濃度刺激による発現変化
の検討 寺見直人、小川大輔、橘洋美、堀口
千景、小寺亮、江口潤、中司敦子、和田淳、
四方賢一、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会
学術総会（東京）平成 25 年 5 月 11 日
 28. 嚢胞形成の新規分子機構 - ACAM/CLMP 欠
損マウスの解析 - 村上和敏、和田淳、江口
潤、中司敦子、佐藤美和、寺見直人、小川大
輔、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総
会（東京）平成 25 年 5 月 12 日
 29. 内臓脂肪蓄積に伴って強発現する膜蛋白
Gpnmb の脂肪肝炎抑制効果と可溶性分泌型
の関与 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口
潤、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、
寺見隆宏、渡邊真由、樋口千草、肥田和之、
四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学
会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 16
日
 30. Vaspin inhibits apoptosis of endothelial cells as
ligand for cell-surface GRP78/VDAC complex. J
Wada, A Nakatsuka, S Teshigawara, K
Murakami, T Terami, K Inoue, A Katayama, C
Higuchi, M Watanabe, J Eguchi, H Makino. 第
56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）
平成 25 年 5 月 17 日
 31. メタボリックシンドロームにおける
Galectin-9-Tim-3 経路の意義 勅使川原早苗、
和田淳、神崎資子、江口潤、中司敦子、村上
和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、槇
野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集
会（熊本）平成 25 年 5 月 17 日
 32. ACAM (adipocyte adhesion molecule) /CLMP
の脂肪分化と肥満症における意義 村上和
敏、和田淳、江口潤、中司敦子、寺見隆宏、

- 井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 17 日
33. 糖尿病マウス腎および高糖濃度刺激下での培養腎細胞における核内受容体の発現解析 寺見直人、小川大輔、橘洋美、堀口千景、小寺亮、江口潤、中司敦子、和田淳、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 17 日
 34. 糖毒性患者にインスリン療法導入後、6 ヶ月以内に離脱可能を推測させる導入前における内因性インスリン分泌能マーカーの検討 肥田和之、伊勢田泉、太田徹、林恭加、柴田祐助、利根淳仁 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 17 日
 35. CSII を施行されている 1 型糖尿病患者の血糖コントロールに影響を与える因子について 利根淳仁、伊勢田泉、太田徹、林恭加、柴田祐助、真邊香江、藤原喜子、肥田和之 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 17 日
 36. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングの検討 井上謙太郎、和田淳、小川大輔、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、勅使川原早苗、片山晶博、小川智央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 18 日
 37. メタボリックシンドロームにおける脂肪組織由来血清 miRNA の同定 樋口千草、和田淳、中司敦子、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、渡邊真由、江口潤、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 18 日
 38. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT) の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、渡邊真由、樋口千草、江口潤、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 18 日
 39. メタボリック症候群におけるアルブミン尿と炎症およびインスリン抵抗性についての検討 梶谷展生、四方賢一、石井啓太、平田教至、小寺亮、廣田大昌、和田淳、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 18 日
 40. 当院におけるシタグリブチンの使用経験 重松照伸、宮下雄博、岡田震一、藤井総一郎、早川信彦、岡崎守宏 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 18 日
 41. 高齢糖尿病患者におけるグリメピリドとシタグリブチン併用症例の検討 宮下雄博、早川信彦 第 55 回日本老年医学会学術集会（大阪）平成 25 年 6 月 4 日
 42. Nuclear Hormone Receptor Expression in Mouse Kidney and Renal Cell Lines. D Ogawa, J Eguchi, H Tachibana, C Sato-Horiguchi, T. Hatanaka, A Nakatsuka, J Wada, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 22, 2013
 43. Phosphatidylethanolamine N-Methyltransferase (PEMT) Deficiency Protects from Obesity and Insulin Resistance but Promote Steatohepatitis with Tumorigenesis. A Nakatsuka, J Wada, K Murakami, T Terami, J Eguchi, D Ogawa, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 23, 2013
 44. ACAM (Adipocyte Adhesion Molecule) / CLMP Inhibits Adipocyte Hypertrophy in Obesity. K Murakami, J Wada, J Eguchi, D Ogawa, T Terami, N Terami, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 23, 2013
 45. 肥満において Pemt 欠損がもたらす脂肪肝炎とエピゲノム 中司敦子、和田淳、渡邊真由、樋口千草、天田雅文、布上朋和、片山晶博、寺見隆宏、勅使川原早苗、村上和敏、江口潤、槇野博史 第 34 回日本肥満学会年次学術集会（東京）平成 25 年 10 月 12 日
 46. 内臓脂肪蓄積に伴って強発現する膜蛋白 GpnmB の脂肪肝炎抑制効果と可溶性分泌型の関与 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、勅使川原早苗、寺見隆宏、樋口千草、布上朋和、天田雅文、四方賢一、肥田和之、槇野博史 第 34 回日本肥満学会年次学術集会（東京）平成 25 年 10 月 12 日
 47. 高齢発症 1 型糖尿病患者の膵島関連抗体に関する分析 三小田亜希子、松岡孝、藤原大介、武川郷、鈴木貴博、高橋健二 第 25 回日本老年医学会中国地方会（岡山）平成 25 年 11 月 23 日 肥満により脂肪組織に誘導される膜蛋白 GpnmB の脂肪肝炎抑制効果 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、勅使川原早苗、樋口千草、布上朋和、天田雅文、肥田和之、槇野博史 第 57 回日本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 22 日
 48. 2 型糖尿病マウスにおける SGLT2 阻害薬ダパグリフロジンの腎保護効果の検討 小川大輔、寺見直人、畑中崇志、橘洋美、江口潤、中司敦子、和田淳、槇野博史 第 57 回日本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 22 日

49. エクソーム解析を行った若年発症糖尿病の1例 布上朋和、江口潤、天田雅文、和田淳、四方賢一、槇野博史 第57回本糖尿病学会総会(大阪)平成26年5月23日
50. 糖尿病腎症第1期および第2期における腎機能低下要因の解析 小比賀美香子、四方賢一、小野哲一郎、小寺亮、江口潤、廣田大昌、村上和敏、中司敦子、小川大輔、和田淳、片岡仁美、槇野博史 第57回本糖尿病学会総会(大阪)平成26年5月24日
51. ACAM (adipocyte adhesion molecule) /CLMPの一次繊毛機能を介した脂肪細胞分化と肥満症における意義 村上和敏、和田淳、佐藤美和、江口潤、布上朋和、片山晶博、中司敦子、小川大輔、四方賢一、槇野博史 第57回本糖尿病学会総会(大阪)平成26年5月24日
52. メタボリックシンドロームにおけるphosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT)の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、勅使川原早苗、片山晶博、渡邊真由、樋口千草、天田雅文、布上朋和、江口潤、小川大輔、槇野博史 第57回本糖尿病学会総会(大阪)平成26年5月24日
53. ワークショップ2 動物モデルを用いたNASH病態解析 脂肪肝炎におけるPemtの意義 中司敦子、松山誠、村上和敏、勅使川原早苗、江口潤、小川大輔、高木章乃夫、福島正樹、山本和秀、槇野博史、和田淳 第1回肝臓と糖尿病・代謝研究会(東京)平成26年7月4日
54. 早期糖尿病性腎症患者における尿中TFF3 (Urinary Trefoil Factor 3)と尿中アルブミンの関連についての検討 寺見直人、小川大輔、山成俊夫、杉山斉、畑中崇志、和田淳、四方賢一、西井尚子、槇野博史 第57回日本腎臓学会総会(横浜)平成26年7月4日
55. 顕性蛋白尿期の2型糖尿病患者におけるアルダクトンの蛋白尿減少効果 加藤佐和子、丸山彰一、槇野博史、和田淳、宇津貴、荒木久澄、古家大祐、金崎啓造、西山成、今井圓裕、安藤昌彦 第57回日本腎臓学会総会(横浜)平成26年7月5日
56. ワークショップ2 ネフローゼ症候群を呈する疾患の最新の診断・治療 レクチンマイクロアレイによる糖尿病性腎症の新規バイオマーカーの同定 和田淳、勅使河原早苗、中司敦子、江口潤 第44回日本腎臓学会西部学術集会(神戸)平成26年10月3日
57. 早期糖尿病性腎症におけるバイオマーカーとしての尿中TFF (Trefoil factor)の検討 寺見直人、小川大輔、畑中崇志、山成俊夫、杉山斉、四方賢一、槇野博史、和田淳 日本糖尿病学会中国四国地方会第52回総会(広島)平成26年10月24日
58. メタボリックシンドロームにおける脂肪組織と骨格筋の機能異常を制御する新規因子の探索 天田雅文、江口潤、柴田祐助、布上朋和、片山晶博、勅使河原早苗、村上和敏、中司敦子、和田淳 第35回日本肥満学会(宮崎)平成26年10月25日
59. メタボリックシンドロームに伴う脂肪肝炎とPemtの意義 中司敦子、村上和敏、勅使河原早苗、片山晶博、布上朋和、天田雅文、山口哲史、江口潤、和田淳 第35回日本肥満学会(宮崎)平成26年10月25日
60. メタボリックシンドロームにおけるGalectin-9の意義 布上朋和、勅使河原早苗、柴田祐助、天田雅文、片山晶博、村上和敏、江口潤、中司敦子、和田淳 第35回日本肥満学会(宮崎)平成26年10月25日
61. 脂肪細胞における接着とアクチン重合を介したACAMの抗肥満作用 村上和敏、江口潤、中司敦子、和田淳 第35回日本肥満学会(宮崎)平成26年10月25日

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表1 LecChip™Ver.1 におけるレクチンのリストとその特異性

Lectin No.	Lectin	Origin	Reported specificity
1	LTL	<i>Lotus tetragonolobus</i>	Fuc α 1-3(Gal β 1-4)GlcNAc, Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc
2	PSA	<i>Pisum sativum</i>	Fuc α 1-6GlcNAc, α -D-Glc, α -D-Man
3	LCA	<i>Lens culinaris</i>	Fuc α 1-6GlcNAc, α -D-Glc, α -D-Man
4	UEA-I	<i>Ulex europaeus</i>	Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc
5	AOL	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>I-fucose-specific lectin</i>	Fuc α 1-6GlcNAc (core fucose)
6	AAL	<i>Aleuria aurantia</i>	Fuc α 1-6GlcNAc, Fuc α 1-3(Gal β 1-4)GlcNAc
7	MAL	<i>Maackia amurensis</i>	Sia α 2-3Gal β 1-4GlcNAc
8	SNA	<i>Sambucus nigra</i>	Sia α 2-6Gal/GalNAc
9	SSA	<i>Sambucus sieboldiana</i>	Sia α 2-6Gal/GalNAc
10	TJA-I	<i>Trichosanthes japonica</i>	Sia α 2-6Gal/GalNAc
11	PHAL	<i>Phaseolus vulgaris</i>	tri/tetra-antennary complex-type N-glycan
12	ECA	<i>Erythrina cristagalli</i>	Gal β 1-4GlcNAc
13	RCA120	<i>Ricinus communis</i>	Gal β 1-4GlcNAc
14	PHAE	<i>Phaseolus vulgaris</i>	bi-antennary complex-type N-glycan with outer Gal and bisecting GlcNAc
15	DSA	<i>Datura stramonium</i>	(GlcNAc β 1-4) _n , Gal β 1-4GlcNAc
16	GSL-II	<i>Griffonia simplicifolia</i>	agalactosylated tri/tetra antennary glycans, GlcNAc
17	NPA	<i>Narcissus pseudonarcissus</i>	High-Mannose, Man α 1-6Man
18	ConA	<i>Canavalia ensiformis</i>	High-Mannose, Man α 1-6(Man α 1-3)Man
19	GNA	<i>Galanthus nivalis</i>	High-Mannose, Man α 1-3Man
20	HHL	<i>Hippeastrum hybrid</i>	High-Mannose, Man α 1-3Man, Man α 1-6Man
21	ACG	<i>Agroclybe cylindracea</i>	Sia α 2-3Gal β 1-4GlcNAc
22	TxLCI	<i>Tulipa gesneriana</i>	Man α 1-3(Man α 1-6)Man, bi- and tri-antennary complex-type N-glycan, GalNAc
23	BPL	<i>Bauhinia purpurea alba</i>	Gal β 1-3GalNAc, GalNAc
24	TJA-II	<i>Trichosanthes japonica</i>	Fuc α 1-2Gal β 1-> or GalNAc β 1-> groups at their nonreducing terminals
25	EEL	<i>Euonymus europaeus</i>	blood group B antigen, Gal α 1-3Gal
26	ABA	<i>Agaricus bisporus</i>	Gal β 1-3GalNAc
27	LEL	<i>Lycopersicon esculentum</i>	GlcNAc trimers/tetramers
28	STL	<i>Solanum tuberosum</i>	GlcNAc oligomers, oligosaccharide containing GlcNAc and MurNAc
29	UDA	<i>Urtica dioica</i>	GlcNAc β 1-4GlcNAc, Mixture of Man5 to Man9
30	PWM	<i>Phytolacca americana</i>	(GlcNAc β 1-4) _n
31	Jacalin	<i>Artocarpus integrifolia</i>	Gal β 1-3GalNAc, GalNAc

32	PNA	<i>Arachis hypogaea</i>	Gal β 1-3GalNAc
33	WFA	<i>Wisteria floribunda</i>	GalNAc β 1-4GlcNAc, Gal β 1-3(-6)GalNAc
34	ACA	<i>Amaranthus caudatus</i>	Gal β 1-3GalNAc
35	MPA	<i>Maclura pomifera</i>	Gal β 1-3GalNAc, GalNAc
36	HPA	<i>Helix pomatia agglutinin</i>	α -linked terminal GalNAc
37	VVA	<i>Vicia villosa</i>	α -linked terminal GalNAc, GalNAc α 1-3Gal
38	DBA	<i>Dolichos biflorus</i>	blood group A antigen, GalNAc α 1-3GalNAc
39	SBA	<i>Glycine max</i>	α - or β -linked terminal GalNAc, GalNAc α 1-3Gal
40	Calsepa	<i>Calystegia sepium</i>	Mannose, Maltose
41	PTL-I	<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	α -linked terminal GalNAc
42	MAH	<i>Maackia amurensis</i>	Sia α 2-3Gal β 1-3(Sia α 2-6)GalNAc
43	WGA	<i>Triticum unlgaris</i>	chitin oligomers, Sia
44	GSL-I A4	<i>Griffonia simplicifolia Lectin I</i> <i>Isolectin A4</i>	α -linked GalNAc
45	GSL-I B4	<i>Griffonia simplicifolia Lectin I</i> <i>Isolectin B4</i>	α -linked Gal

These data were collected from lectin vendors and reports found by internet searches.

表2 糖尿病性腎症 A3G3 期の患者から得られた尿サンプルの liquid chromatography–tandem mass spectrometer (LC/MS-MS) の結果

Pos.	Ac.No.	Protein Name	Sequences	emPAI*1	Score*2
1	ALBU_HUMAN	Serum albumin	36	11.04	3985
2	TRFE_HUMAN	Serotransferrin	15	1.08	965
3	AMBP_HUMAN	Protein AMBP (alpha 1-microglobulin)	5	0.57	224
4	VTDB_HUMAN	Vitamin D-binding protein	3	0.14	130
5	HEMO_HUMAN	Hemopexin	3	0.23	112
6	PTGDS_HUMAN	Prostaglandin-H2 D-isomerase	1	0.18	75
7	IGKC_HUMAN	Ig kappa chain C region	1	0.34	70
8	HPT_HUMAN	Haptoglobin	3	0.17	63
9	DTX3L_HUMAN	E3 ubiquitin-protein ligase DTX3L	1	0.04	49
10	CLUS_HUMAN	Clusterin	1	0.07	39
11	SAP_HUMAN	Proactivator polypeptide	1	0.06	34
12	A1AT_HUMAN	Alpha-1-antitrypsin	2	0.08	33
13	AFAM_HUMAN	Afamin	2	0.05	32
14	FETUA_HUMAN	Alpha-2-HS-glycoprotein (Fetuin-A)	1	0.09	29
15	THRB_HUMAN	Prothrombin	1	0.05	25
16	TRPC4_HUMAN	Short transient receptor potential channel 4	1	0.03	20
17	RABE1_HUMAN	Q15276	2	0.04	19
18	MARK1_HUMAN	Serine/threonine-protein kinase MARK1	1	0.04	16

*1: emPAI (Exponentially Modified Protein Abundance Index) is calculated for the estimation of absolute protein amount

$$emPAI = 10^{\frac{N_{observed}}{N_{observable}} - 1}$$

*2: Probability Based Mowse Score. Ions score is $-10 \cdot \log(P)$, where P is the probability that the observed match is a random event. Individual ions scores > 16 indicate identity or extensive homology ($p < 0.05$).

表3 糖尿病性腎症A3G4期の患者から得られた尿サンプルのliquid chromatography–tandem mass spectrometer (LC/MS-MS) の結果

Pos.	Ac.No.	Protein Name	Sequences	emPAI	Score*1
1	ALBU_HUMAN	Serum albumin	52	21.13	3829
2	TRFE_HUMAN	Serotransferrin	23	1.61	800
3	HPT_HUMAN	Haptoglobin	17	3.1	683
4	IGHG1_HUMAN	Ig gamma-1 chain C region	10	2.56	601
5	IGHG2_HUMAN	Ig gamma-2 chain C region	8	0.99	227
6	IGKC_HUMAN	Ig kappa chain C region	6	4.73	516
7	IGHA1_HUMAN	Ig alpha-1 chain C region	10	1.54	422
8	A2MG_HUMAN	Alpha-2-macroglobulin	18	0.46	417
9	A1AT_HUMAN	Alpha-1-antitrypsin	10	1.16	392
10	APOA1_HUMAN	Apolipoprotein A-I	8	1.53	251
11	AMBP_HUMAN	Protein AMBP (alpha 1-microglobulin)	7	0.88	226
12	HEMO_HUMAN	Hemopexin	7	0.62	214
13	LAC2_HUMAN	Ig lambda-2 chain C regions	4	1.45	204
14	CO4A_HUMAN	Complement C4-A	2	0.04	147
15	CERU_HUMAN	Ceruloplasmin	2	0.06	127
16	IC1_HUMAN	Plasma protease C1 inhibitor	4	0.22	94
17	A1BG_HUMAN	Alpha-1B-glycoprotein	1	0.07	94
18	PTGDS_HUMAN	Prostaglandin-H2 D-isomerase	1	0.18	94
19	A1AG1_HUMAN	Alpha-1-acid glycoprotein 1 (orosomuroid)	3	0.56	82
20	ANGT_HUMAN	Angiotensinogen	1	0.07	74
21	ANT3_HUMAN	Antithrombin-III	2	0.07	72
22	KNG1_HUMAN	Kininogen-1	2	0.05	71
23	FETUA_HUMAN	Alpha-2-HS-glycoprotein (Fetuin-A)	1	0.09	70
24	PGRP2_HUMAN	N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase	1	0.06	62
25	CO3_HUMAN	Complement C3	5	0.02	55
26	THRB_HUMAN	Prothrombin	1	0.05	31
27	VTDB_HUMAN	Vitamin D-binding protein	1	0.07	30
28	MTUS1_HUMAN	Microtubule-associated tumor suppressor 1	1	0.03	26

*1: emPAI (Exponentially Modified Protein Abundance Index) is calculated for the estimation of absolute protein amount

$$emPAI = 10^{\frac{N_{observed}}{N_{observable}} - 1}$$

*2: Probability Based Mowse Score. Ions score is $-10 \cdot \log(P)$, where P is the probability that the observed match is a random event. Individual ions scores > 16 indicate identity or extensive homology ($p < 0.05$).

図 1 . 糖尿病性腎症の各病期におけるレクチンアレイ解析

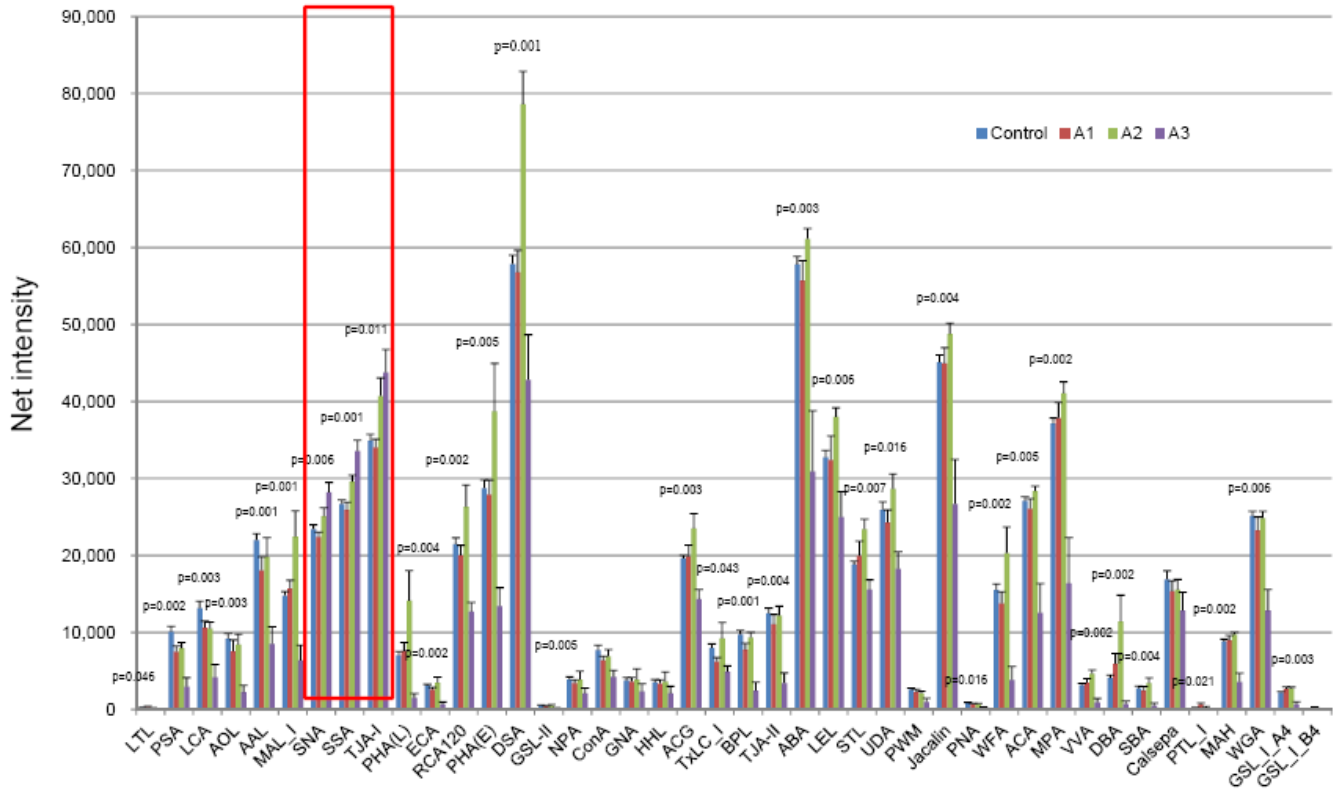
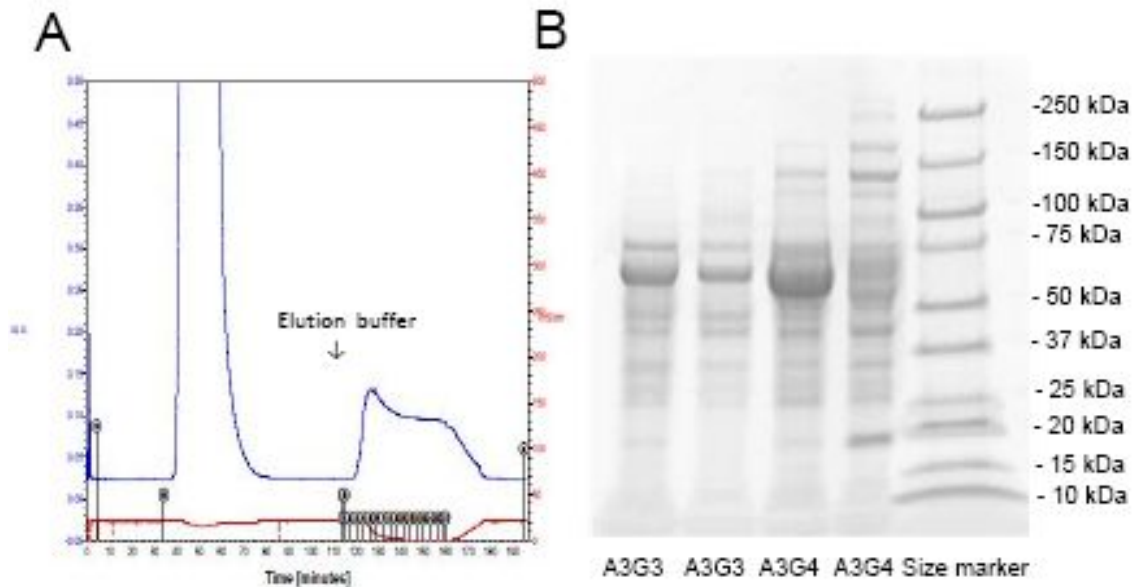


図 2 SSAレクチンカラムによるアフィニティークロマトグラフィー (A) と、精製された蛋白質の SDS-PAGE (B)



3. 尿中バイオマーカーのELISAによる測定

研究分担者

中司敦子・岡山大学病院・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教
江口潤・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教
勅使川原早苗・岡山大学院医歯薬学総合研究科・地域医療人材育成講座・助教
利根淳仁(岡山大学病院・糖尿病センター・助教)
肥田和之・独立行政法人国立病院機構岡山医療センター・糖尿病・代謝内科・医長
伊勢田泉・独立行政法人国立病院機構岡山医療センター・糖尿病・代謝内科・常勤医
和田淳・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・准教授

研究要旨

糖尿病性腎症の新規バイオマーカー候補として同定されたhaptoglobin, α 2-macroglobulin, apolipoprotein A-I, protein AMBP (α 1-microglobulin), ceruloplasmin, α 1-acid glycoprotein (orosomuroid), α 2-HS-glycoprotein (fetuin-A), angiotensinogenを糖尿病性腎症正常アルブミン尿期(n=36)、微量アルブミン尿期(n=25)、顕性蛋白尿期(n=24)の尿サンプルで測定した。測定感度以下とならず安定して測定できたのは、 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-Aであった。 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-Aは既報でシアル酸蛋白質であることが報告されているため、これら3つの尿中マーカーについて糖尿病や腎症の臨床データとの横断的な比較検討を行った。 α 1-microglobulinは腎臓の間質マーカーとして保険収載されており、またorosomuroidは糖尿病性腎症の尿中マーカーとして報告されているが、尿中fetuin-AについてはELISAによる尿中濃度の検討はまだ報告がない。 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-Aの尿中濃度は血清クレアチニン、尿素窒素、尿中アルブミン排泄量(ACR)と正の相関を示し、また血清アルブミン、HDL-コレステロール、eGFRと負の相関を示した。eGFR、尿中アルブミン排泄量(ACR)、HDL-コレステロールを独立変数として、尿中 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-A排泄量をそれぞれ従属変数として重回帰分析を施行した。尿中 α 1-microglobulin排泄量に関しては、eGFRと尿中微量アルブミン(ACR)が、尿中fetuin-A排泄量に関しては尿中アルブミン排泄量(ACR)が有意差をもって独立した説明変数であることが示された。さらに尿中orosomuroid排泄量に関しては、尿中アルブミン排泄量(ACR)とHDL-コレステロールが有意差をもって独立した説明変数であることが明らかとなった。微量アルブミン尿陽性あるいはeGFR 60 mL/min未満に対するリスク因子として尿中 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-A排泄量を比較した。ステップワイズ多項ロジスティック解析を施行した結果、微量アルブミン尿陽性あるいはeGFR 60 mL/min未満に対するリスク因子として尿中fetuin-A排泄量のみが採択された。

研究分担者

江口潤(岡山大学病院・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教)、中司敦子(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・糖尿病性腎症治療学講座・助教)、勅使川原早苗(岡山大学院医歯薬学総合研究科・地域医療人材育成講座・助教)

A. 研究目的

糖尿病性腎症の新規バイオマーカー候補として同定された haptoglobin, α 2-macroglobulin, apolipoprotein A-I, protein AMBP (α 1-microglobulin), ceruloplasmin, α 1-acid glycoprotein (orosomuroid), α 2-HS-glycoprotein (fetuin-A), angiotensinogen を糖尿病性腎症患者の尿サンプルを用いて測定した。尿サンプル

は糖尿病性腎症正常アルブミン尿期(n=36)、微量アルブミン尿期(n=25)、顕性蛋白尿期(n=24)の患者から採取した。

B. 研究方法

尿サンプルを用いたELISA測定

N-抗血清ハプトグロビン、N-抗血清 α 2-マクログロブリン、N-抗血清セルロプラスミン、N-抗血清 α 2-アシッドグリコプロテイン(シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス)、アポA-Iオート・N「第一」(積水メディカル)、LZテスト栄研 α 1-M(栄研化学)、Human Fetuin-A ELISA (BioVender)、Human Total Angiotensinogen Assay Kit-IBL (IBL)を用いて尿中の濃度を測定し、クレアチニン補正を行うことにより検討した。

C . 研究結果

Haptoglobin, α 2-macroglobulin, apolipoprotein A-I, protein AMBP (α 1-microglobulin), ceruloplasmin, α 1-acid glycoprotein (orosomuroid), α 2-HS-glycoprotein (fetuin-A), angiotensinogenのうち測定感度以下とならず安定して測定できたのは、 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-A, angiotensinogenであった。 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-Aは既報でシアル酸蛋白質であることが報告されているため、これら3つの尿中マーカーについて糖尿病や腎症の臨床データとの横断的に比較検討を行った。なお α 1-microglobulinは腎臓の間質マーカーとして保険収載されており、またorosomuroidは糖尿病性腎症の尿中マーカーとして報告されているが、尿中fetuin-AについてはELISAによる尿中濃度の検討はまだ報告がない。

アルブミン尿のステージ (A1, A2, A3) の進行に従って、年齢、血清総蛋白、血清アルブミン、血清クレアチニン、尿素窒素、尿酸、HDL-コレステロール、eGFR、尿中アルブミン排泄量 (ACR) は有意差を持って変化した (Kruskal-Wallisテスト) (表1)。さらに α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-Aの尿中濃度のいずれもが有意差をもってアルブミン尿の病期の進行に従って上昇した (表1、図1)。さらにGFRステージ (G1, G2, G3, G4) の進行に従って、血清総蛋白、血清アルブミン、血清クレアチニン、尿素窒素、尿酸、eGFR、尿中アルブミン排泄量 (ACR) が有意差を持って変化した (Kruskal-Wallisテスト) (表2)。またアルブミン尿病期と同様に、GFRの病期の進行によって α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-Aの尿中濃度のいずれもが有意差をもって上昇した (表2、図1)。

α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-Aの尿中濃度は血清クレアチニン、尿素窒素、尿中アルブミン排泄量 (ACR) と正の相関を示し、また血清アルブミン、HDL-コレステロール、eGFRと負の相関を示した (表3、図2)。eGFR、尿中アルブミン排泄量 (ACR)、HDL-コレステロールを独立変数として、尿中 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-A排泄量をそれぞれ従属変数として重回帰分析を施行した。尿中 α 1-microglobulin排泄量に関しては、eGFRと尿中微量アルブミン (ACR) が、尿中fetuin-A排泄量に関しては尿中アルブミン排泄量 (ACR) が有意差をもって独立した説明変数であることが示された (表4)。さらに尿中orosomuroid排泄量に関しては、尿中アルブミン排泄量 (ACR) とHDL-コレステロールが有意差をもって独立した説明変数であることが明らか

となった (表4)。

さらにステップワイズ多項ロジスティック解析を施行した。微量アルブミン尿陽性あるいはeGFR 60 mL/min未満に対するリスク因子として尿中 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-A排泄量を検討した。ステップ多項ワイズロジスティック解析では微量アルブミン尿陽性あるいはeGFR 60 mL/min未満に対するリスク因子として尿中fetuin-A排泄量のみが採択された (表5)。

D . 考察

本研究においてシアル酸含有糖蛋白質であるfetuin-Aの尿中排泄量が安定して測定可能であり、かつ糖尿病性腎症の新たな尿中バイオマーカーであることが示された。Fetuin-Aは肝臓より産生される64 kDaの糖蛋白質である。Fetuin-Aは肥満状態で発現が亢進し、それは脂肪細胞におけるアディポネクチンmRNAの発現を抑制して血清アディポネクチン濃度を低下させると報告されている。それによってインスリン抵抗性、糖尿病と腎症の進展が促進されると考えられている。さらにfetuin-Aは遊離脂肪酸 (FFA) の担体でありそれがToll-like receptor 4 (TLR4) に結合することも報告されている。FFA-fetuin-A複合体はTLR4受容体を刺激して脂質による炎症を惹起して糖尿病における慢性炎症とそれによるインスリン抵抗性を惹起していると最近報告されている。

糖尿病患者の血中fetuin-A濃度は大血管障害と相関があるという報告がある一方、細小血管障害とは相関がないとの報告や、微量アルブミン尿が陽性の糖尿病患者や動脈硬化の認められる糖尿病では血中fetuin-A濃度が低いとの報告もあり、一定の見解が得られていない。

一方尿中fetuin-A排泄量は尿中アルブミン排泄量 (ACR) と正の相関を呈し、eGFRと負の相関を呈した。また横断研究ではあるが、ステップワイズロジスティック解析では微量アルブミン尿陽性あるいはeGFR 60 mL/min未満に対するリスク因子として尿中fetuin-A排泄量のみが採択された。従って本研究によって糖尿病性腎症の進展を予測するバイオマーカーの候補であることが示された。尿中fetuin-A排泄量の増加は肝臓での産生増加や糸球体毛細血管における透過性、あるいは尿細管の再吸収など複数の要因が関与していると考えられる。

E . 結論

糖尿病性腎症の新規バイオマーカーとしては、haptoglobin, α 2-macroglobulin, apolipoprotein A-I, protein AMBP (α 1-microglobulin), ceruloplasmin, α 1-acid glycoprotein (orosomuroid),

α 2-HS-glycoprotein (fetuin-A), angiotensinogenを糖尿病性腎症患者の尿サンプルを用いて測定した。感度以下とならず安定して測定できたのは、 α 1-microglobulin, orosomucoid, fetuin-A, angiotensinogenであった。尿中fetuin-A排泄量は尿中アルブミン排泄量と正の相関を、eGFRと負の相関を示し、新たな糖尿病性腎症の尿中バイオマーカーであると考えられた。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Nakatsuka A, Wada J, Hida K, Hida A, Eguchi J, Teshigawara S, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Ogawa D, Kagechika H, Makino H. RXR antagonism induces G0/G1 cell cycle arrest and ameliorates obesity by up-regulating the p53-p21^{Cip1} pathway in adipocytes. *J Pathol* 226(5), 784-795, 2012
2. Teshigawara S, Wada J, Hida K, Nakatsuka A, Eguchi J, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Iseda I, Matsushita Y, Miyatake N, McDonald JF, Hotta K, Makino H. Serum vaspin concentrations are closely related to insulin resistance and rs77060950 at SERPINA12 genetically defines distinct group with higher serum levels in Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 97(7), E1202-1207, 2012
3. Kawai D, Takaki A, Nakatsuka A, Wada J, Tamaki N, Yasunaka T, Koike K, Tsuzaki R, Matsumoto K, Miyake Y, Shiraha H, Morita M, Makino H, Yamamoto K. Hydrogen-rich water prevents progression of non-alcoholic steatohepatitis and accompanying hepatocarcinogenesis in mice. *Hepatology* 56(3), 912-921, 2012
4. Kanzaki M, Wada J, Kikumoto Y, Akagi S, Nakao K, Sugiyama H, Makino H. The therapeutic potential of synthetic human atrial natriuretic peptide in nephrotic syndrome: a randomized controlled trial. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 5, 91-96, 2012
5. Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Hida K, Eguchi J, Horiguchi CS, Ogawa D, Matsuki Y, Hiramatsu R, Yagita H, Kakuta S, Iwakura Y, Makino H. Vaspin is an adipokine ameliorating ER stress in obesity as a ligand for cell-surface GRP78/MTJ-1 complex. *Diabetes* 61(11), 2823-2832, 2012
6. Tachibana H, Ogawa D, Matsushita Y, Bruemmer D, Wada J, Teshigawara S, Eguchi J, Sato-Horiguchi C, Uchida HA, Shikata K, Makino H. Activation of liver x receptor inhibits osteopontin and ameliorates diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 23(11), 1835-1846, 2012
7. Inoue J, Wada J, Teshigawara S, Hida K, Nakatsuka A, Takatori U, Kojo S, Akagi S, Nakao K, Miyatake N, McDonald JF, Makino H. The serum vaspin levels are reduced in Japanese chronic hemodialysis patients. *BMC Nephrol* 13(1), 163, 2012
8. Wada J and Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Clin Sci* 124(3), 139-152, 2013
9. Sugiyama K, Sada KE, Kurosawa M, Wada J, Makino H. Current status of the treatment of microscopic polyangiitis and granulomatosis with polyangiitis in Japan. *Clin Exp Nephrol* 17(1), 51-58, 2013
10. Murakami K, Wada J, Ogawa D, Horiguchi CS, Miyoshi T, Sasaki M, Uchida HA, Nakamura Y, Makino H. The effects of telmisartan treatment on the abdominal fat depot in patients with metabolic syndrome and essential hypertension: Abdominal fat Depot Intervention Program of Okayama (ADIPO). *Diab Vasc Dis Res* 10(1), 93-96, 2013
11. Sato-Horiguchi C, Ogawa D, Wada J, Tachibana H, Koderia R, Eguchi J, Nakatsuka A, Terami N, Shikata K, Makino H. Telmisartan attenuates diabetic nephropathy by suppressing oxidative stress in db/db mice. *Nephron Exp Nephrol* 121(3-4), e97-e108, 2013
12. Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Hida K, Eguchi J, Ogawa D, Matsuki Y, Hiramatsu R, Tagita H, Kakuta S, Iwakura Y, Makino H. Vaspin inhibits apoptosis of endothelial cells as a ligand for cell-surface GRP78/VDAC complex. *Circ Res* 112(5), 771-780, 2013
13. Kurose Y, Wada J, Kanzaki M, Teshigawara S, Nakatsuka A, Murakami K, Inoue K, Terami T, Katayama A, Watanabe M, Higushi C, Eguchi J, Miyatake N, Makino H. Serum galectin-9 levels are elevated in the patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 14, 23, 2013
14. Nakatsuka A, Wada J, Makino H. Cell cycle abnormality in metabolic syndrome and nuclear receptors as an emerging therapeutic target. *Acta Medica Okayama* 67(3), 129-134, 2013
15. Inoue K, Wada J, Eguchi J, Nakatsuka A, Teshigawara S, Murakami K, Ogawa D, Terami T, Katayama A, Tone A, Iseda I, Hida K, Yamada M, Ogawa T, Makino H. Urinary fetuin-A is a novel marker for diabetic

neuropathy in type 2 diabetes identified by lectin microarray. *PLoS ONE* 8(10): e77118, 2013

16. Terami T, Wada J, Inoue K, Nakatsuka A, Ogawa D, Teshigawara S, Murakami K, Katayama A, Eguchi J, Makino H. Urinary angiotensinogen is a marker for tubular injuries in patients with type 2 diabetes. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 6, 233-240, 2013
17. Ogawa D, Eguchi J, Wada J, Terami N, Hatanaka T, Tachibana H, Nakatsuka A, Horiguchi CS, Nishii N, Makino H. Nuclear hormone receptor expression in mouse kidney and renal cell lines. *PLoS ONE* 9(1), e85594, 2014
18. Watanabe M, Nakatsuka A, Murakami K, Inoue K, Terami T, Higuchi C, Katayama A, Teshigawara S, Eguchi J, Ogawa D, Watanabe E, Wada J, Makino H. Pemt deficiency ameliorates endoplasmic reticulum stress in diabetic nephropathy. *PLoS ONE* 9(3), e92647, 2014
19. Miyoshi T, Nakamura K, Yoshida M, Miura D, Oe H, Akagi S, Sugiyama H, Akazawa K, Yonezawa T, Wada J and Ito H. Effect of vildagliptin, a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor, on cardiac hypertrophy induced by chronic beta-adrenergic stimulation in rats. *Cardiovascular Diabetology* 13:43, 2014
20. Terami N, Ogawa D, Tachibana H, Hatanaka T, Wada J, Nakatsuka A, 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. *PLoS ONE* 9(6), e100777, 2014.
21. Ono T, Shikata K, Obika M, Miyatake N, Kadera R, Hirota D, Wada J, Kataoka H, Ogawa D, Makino H. Factors associated with remission and/or regression of microalbuminuria in type 2 diabetes mellitus. *Acta Med Okayama* 68(4), 235-241, 2014
22. Hishikawa N, Yamashita T, Deguchi K, Wada J, Shikata K, Makino H, Abe K. *Eur J Neurol* 2014 Sep 15. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

1. PEMT deficiency protects from obesity and insulin resistance, but induces severe steatohepatitis. シンポジウム3:慢性炎症とインスリン抵抗性 和田淳、中司敦子、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月17日
2. Identification of transmembrane proteins expressed in adipocytes under obese-state and

the roles soluble forms in fat accumulation. Jun Wada, International Symposium for the Study of Obesity “Translational Science and Epidemiology on Adipomedicine; From Lipodystrophy to Obesity”, Oct 13-14, 2012, Shiran Kaikan of Kyoto University, Kyoto

3. ガレクチノミクス解析からグライコミクス解析へ 和田淳 平成24年度金沢大学戦略的研究推進プログラム - 次世代重点研究プログラム - 第2回シンポジウム 金沢市文化ホール(金沢市)平成24年9月14日
4. Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT) deficiency protects from obesity and insulin resistance but promote non-alcoholic steatohepatitis with tumorigenesis. Atsuko Nakatsuka, Jun Wada, Kazutoshi Murakami, Takahiro Terami, Akihiro Katayama, Jun Eguchi, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 29, 2013
5. The pathological role of galectin-9 in metabolic syndrome. Sanae Teshigawara, Jun Wada, Motoko Kanzaki, Kazutoshi Murakami, Akihiro Katayama, Takahiro Terami, Kentaro Inoue, Jun Eguchi, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 30, 2013
6. Soluble form of transmembrane protein, Gpnmb, is a novel adipokine with a protective role in fatty liver disease in obesity. Akihiro Katayama, Jun Wada, Atsuko Nakatsuka, Jun Eguchi, Kazutoshi Murakami, Motoko Kanzaki, Sanae Teshigawara, Takahiro Terami, Kentaro Inoue, Kazuyuki Hida, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 19, 2013
7. メタボリックシンドロームにおける Galectin-9 の機能解析 神崎資子、和田淳、中司敦子、村上和敏、勅使川原早苗、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、四方賢一、秋葉久弥、八木田秀雄、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月17日
8. メタボリックシンドロームにおける Gpnmb の意義 片山晶博、和田淳、中司敦子、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、肥田和之、四方賢一、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月17日
9. 糖尿病性腎症発症および病態進展における miR-34a の発現変化とその機能解析 高塚哲

- 全、四方賢一、小寺亮、宮本聡、廣田大昌、梶谷展生、佐藤千景、小川大輔、和田淳、片岡仁美、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 17 日
10. 早期糖尿病性腎症における Telmsartan の抗酸化作用の検討 佐藤千景、小川大輔、松下裕一、橘洋美、小寺亮、廣田大昌、宮本聡、梶谷展生、和田淳、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 17 日
 11. ACAM (adipocyte adhesion molecule) の脂肪分化とメタボリックシンドロームにおける意義 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、神崎資子、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 18 日
 12. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングの検討 井上謙太郎、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、勅使川原早苗、黒瀬祐子、片山晶博、樋口千草、渡邊真由、小川智優央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 13. 2 型糖尿病患者の腎症に関連する因子の横断的解析 小比賀美香子、四方賢一、小野哲一郎、梶谷展生、小寺亮、宮本聡、廣田大昌、村上和敏、佐藤千景、小川大輔、和田淳、片岡仁美、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 14. メタボリック症候群におけるマクロファージ IRF4 (Interferon Regulatory Factor 4) の病態生理学的意義 江口潤、和田淳、槇野博史、Evan Rosen 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 15. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyl transferase (PEMT) の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 16. PSGL-1 を阻害することにより、肥満マウスにおける内臓脂肪と肝臓の炎症とインスリン抵抗性が改善される 廣田大昌、四方賢一、佐藤千景、高塚哲全、宮本聡、小寺亮、梶谷展生、小川大輔、和田淳、片岡仁美、和田淳、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 17. 糖尿病性腎症モデルラットにおけるメタロチオネイン (metallothionein) の発現の検討 橘洋美、小川大輔、松下裕一、佐藤千景、和田淳、喜多村真治、前島洋平、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 18. 2 型糖尿病における腎症の発症および進展に關与する因子の解析 小野哲一郎、四方賢一、小比賀美香子、梶谷展生、小寺亮、宮本聡、廣田大昌、村上和敏、佐藤千景、小川大輔、和田淳、片岡仁美、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 19. グライコーム解析による糖尿病性腎症バイオマーカーの探索 井上謙太郎、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、黒瀬祐子、片山晶博、勅使川原早苗、樋口千草、渡邊真由、小川智優央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本腎臓学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 6 月 3 日
 20. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyl transferase (PEMT) の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、槇野博史 第 33 回日本肥満学会 ホテルグランビア京都（京都市）平成 24 年 10 月 11 日
 21. ACAM (adipocyte adhesion molecule) の脂肪分化と肥満症における意義 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、神崎資子、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、槇野博史 ホテルグランビア京都（京都市）平成 24 年 10 月 12 日
 22. メタボリックシンドロームにおける Gpnm の意義 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、渡邊真由、樋口千草、肥田和之、四方賢一、槇野博史 ホテルグランビア京都（京都市）平成 24 年 10 月 12 日
 23. GWAS で同定されたウエスト：ヒップ比関連 SNP と CT で測定した内臓脂肪面積との関係 堀田紀久子、中田由夫、松尾友明、和田淳、小谷一晃、嶺尾郁夫、浜口和之、益崎裕章、船橋徹、宮崎滋、徳永勝人、山田研太郎、田中喜代次、花房俊昭、及川眞一、坂田利家、松澤佑次、中尾一和 第 33 回日本肥

- 満学会 ホテルグランビア京都(京都市)平成 24 年 10 月 12 日
24. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングによる新規バイオマーカーの同定(U-CARE 研究) 和田淳、井上謙太郎、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、黒瀬祐子、片山晶博、樋口千草、渡邊真由、小川智央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会(東京)平成 25 年 5 月 10 日
 25. Vaspin による小胞体ストレス制御と糖尿病性腎症の治療 中司敦子、和田淳、勅使川原早苗、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、江口潤、小川大輔、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会 (東京)平成 25 年 5 月 10 日
 26. 糖尿病性腎症における PEMT 阻害の意義 中司敦子、和田淳、渡邊真由、勅使川原早苗、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、江口潤、小川大輔、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会 (東京)平成 25 年 5 月 11 日
 27. マウス腎および培養腎細胞における核内受容体の発現と高糖濃度刺激による発現変化の検討 寺見直人、小川大輔、橘洋美、堀口千景、小寺亮、江口潤、中司敦子、和田淳、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会(東京)平成 25 年 5 月 11 日
 28. 嚢胞形成の新規分子機構 - ACAM/CLMP 欠損マウスの解析 - 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、佐藤美和、寺見直人、小川大輔、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会 (東京)平成 25 年 5 月 12 日
 29. 内臓脂肪蓄積に伴って強発現する膜蛋白 Gpnmb の脂肪肝炎抑制効果と可溶性分泌型の関与 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、渡邊真由、樋口千草、肥田和之、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 16 日
 30. Vaspin inhibits apoptosis of endothelial cells as ligand for cell-surface GRP78/VDAC complex. J Wada, A Nakatsuka, S Teshigawara, K Murakami, T Terami, K Inoue, A Katayama, C Higuchi, M Watanabe, J Eguchi, H Makino. 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 31. メタボリックシンドロームにおける Galectin-9-Tim-3 経路の意義 勅使川原早苗、和田淳、神崎資子、江口潤、中司敦子、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 32. ACAM (adipocyte adhesion molecule) /CLMP の脂肪分化と肥満症における意義 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 33. 糖尿病マウス腎および高糖濃度刺激下での培養腎細胞における核内受容体の発現解析 寺見直人、小川大輔、橘洋美、堀口千景、小寺亮、江口潤、中司敦子、和田淳、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 34. 糖毒性患者にインスリン療法導入後、6 ヶ月以内に離脱可能を推測させる導入前における内因性インスリン分泌能マーカーの検討 肥田和之、伊勢田泉、太田徹、林恭加、柴田祐助、利根淳仁 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 35. CSII を施行されている 1 型糖尿病患者の血糖コントロールに影響を与える因子について 利根淳仁、伊勢田泉、太田徹、林恭加、柴田祐助、真邊香江、藤原喜子、肥田和之 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 36. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングの検討 井上謙太郎、和田淳、小川大輔、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、勅使川原早苗、片山晶博、小川智央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 18 日
 37. メタボリックシンドロームにおける脂肪組織由来血清 miRNA の同定 樋口千草、和田淳、中司敦子、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、渡邊真由、江口潤、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成 25 年 5 月 18 日
 38. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyltransferase(PEMT)の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、渡邊真由、樋口千草、江口潤、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成 25 年 5 月 18 日
 39. メタボリック症候群におけるアルブミン尿と炎症およびインスリン抵抗性についての検討 梶谷展生、四方賢一、石井啓太、平田

- 教至、小寺亮、廣田大昌、和田淳、槇野博史
第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊
本）平成 25 年 5 月 18 日
40. 当院におけるシタグリブチンの使用経験
重松照伸、宮下雄博、岡田震一、藤井総一郎、
早川信彦、岡崎守宏 第 56 回日本糖尿病学
会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 18
日
 41. 高齢糖尿病患者におけるグリメピリドとシ
タグリブチン併用症例の検討 宮下雄博、早
川信彦 第 55 回日本老年医学会学術集会
（大阪）平成 25 年 6 月 4 日
 42. Nuclear Hormone Receptor Expression in
Mouse Kidney and Renal Cell Lines. D Ogawa,
J Eguchi, H Tachibana, C Sato-Horiguchi, T.
Hatanaka, A Nakatsuka, J Wada, H Makino.
ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 22,
2013
 43. Phosphatidylethanolamine N-Methyltransferase
(PEMT) Deficiency Protects from Obesity and
Insulin Resistance but Promote Steatohepatitis
with Tumorigenesis. A Nakatsuka, J Wada, K
Murakami, T Terami, J Eguchi, D Ogawa, H
Makino. ADA 73th Scientific Session.
(Chicago) June 23, 2013
 44. ACAM (Adipocyte Adhesion Molecule) /
CLMP Inhibits Adipocyte Hypertrophy in
Obesity. K Murakami. J Wada, J Eguchi, D
Ogawa, T Terami, N Terami, H Makino. ADA
73th Scientific Session. (Chicago) June 23, 2013
 45. 肥満において Pemt 欠損がもたらす脂肪肝炎
とエピゲノム 中司敦子、和田淳、渡邊真由、
樋口千草、天田雅文、布上朋和、片山晶博、
寺見隆宏、勅使川原早苗、村上和敏、江口潤、
槇野博史 第 34 回日本肥満学会年次学術集
会（東京）平成 25 年 10 月 12 日
 46. 内臓脂肪蓄積に伴って強発現する膜蛋白
Gpnmb の脂肪肝炎抑制効果と可溶性分泌型
の関与 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口
潤、村上和敏、勅使川原早苗、寺見隆宏、樋
口千草、布上朋和、天田雅文、四方賢一、肥
田和之、槇野博史 第 34 回日本肥満学会年
次学術集会（東京）平成 25 年 10 月 12 日
 - 47.
 48. 高齢発症 1 型糖尿病患者の膵島関連抗体に
関する分析 三小田亜希子、松岡孝、藤原大
介、武川郷、鈴木貴博、高橋健二 第 25 回
日本老年医学会中国地方会（岡山）平成
25 年 11 月 23 日肥満により脂肪組織に誘導
される膜蛋白 Gpnmb の脂肪肝炎抑制効果
片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上
和敏、勅使川原 早苗、樋口千草、布上朋和、
天田雅文、肥田 和之、槇野博史 第 57 回本
糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 22
日
 49. 2 型糖尿病マウスにおける SGLT2 阻害薬ダ
パグリフロジンの腎保護効果の検討 小川
大輔、寺見直人、畑中崇志、橘洋美、江口潤、
中司敦子、和田淳、槇野博史 第 57 回本糖
尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 22 日
 50. エクソーム解析を行った若年発症糖尿病の
1 例 布上朋和、江口潤、天田雅文、和田淳、
四方賢一、槇野博史 第 57 回本糖尿病学会
総会（大阪）平成 26 年 5 月 23 日
 51. 糖尿病腎症第 1 期および第 2 期における腎機
能低下要因の解析 小比賀美香子、四方賢一、
小野哲一郎、小寺亮、江口潤、廣田大昌、村
上和敏、中司敦子、小川大輔、和田淳、片岡
仁美、槇野博史 第 57 回本糖尿病学会総会
（大阪）平成 26 年 5 月 24 日
 52. ACAM (adipocyte adhesion molecule) /CLMP
の一次繊毛機能を介した脂肪細胞分化と肥
満症における意義 村上和敏、和田淳、佐藤
美和、江口潤、布上朋和、片山晶博、中司敦
子、小川大輔、四方賢一、槇野博史 第 57
回本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月
24 日
 53. メタボリックシンドロームにおける
phosphatidylethanolamine N-methyltransferase
(PEMT) の意義 中司 敦子、和田 淳、村
上 和敏、勅使川原 早苗、片山 晶博、渡邊 真
由、樋口 千草、天田 雅文、布上 朋和、江
口 潤、小川 大輔、槇野 博史 第 57 回本糖
尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 24 日
 54. ワークショップ 2 動物モデルを用いた
NASH 病態解析 脂肪肝炎における Pemt の
意義 中司敦子、松山誠、村上和敏、勅使川
原早苗、江口潤、小川大輔、高木章乃夫、福
島正樹、山本和秀、槇野博史、和田淳 第 1
回肝臓と糖尿病・代謝研究会（東京）平成
26 年 7 月 4 日
 55. 早期糖尿病性腎症患者における尿中 TFF3
(Urinary Trefoil Factor 3) と尿中アルブミンの
関連についての検討 寺見直人、小川大輔、
山成俊夫、杉山斉、畑中崇志、和田淳、四方
賢一、西井尚子、槇野博史 第 57 回日本腎
臓学会総会（横浜）平成 26 年 7 月 4 日
 56. 顕性蛋白尿期の 2 型糖尿病患者におけるア
ルダクトンの蛋白尿減少効果 加藤佐和子、
丸山彰一、槇野博史、和田淳、宇津貴、荒木
久澄、古家大祐、金崎啓造、西山成、今井圓
裕、安藤昌彦 第 57 回日本腎臓学会総会(横
浜)平成 26 年 7 月 5 日
 57. ワークショップ 2 ネフローゼ症候群を呈す

る疾患の最新の診断・治療 レクチンマイクロアレイによる糖尿病性腎症の新規バイオマーカーの同定 和田淳、勅使河原早苗、中司敦子、江口潤 第44回日本腎臓学会西部学術集会(神戸)平成26年10月3日

58. 早期糖尿病性腎症におけるバイオマーカーとしての尿中TFF (Trefoil factor)の検討 寺見直人、小川大輔、畑中崇志、山成俊夫、杉山斉、四方賢一、槇野博史、和田淳 日本糖尿病学会中国四国地方会第52回総会(広島)平成26年10月24日
59. メタボリックシンドロームにおける脂肪組織と骨格筋の機能異常を制御する新規因子の探索 天田雅文、江口潤、柴田祐助、布上朋和、片山晶博、勅使河原早苗、村上和敏、中司敦子、和田淳 第35回日本肥満学会(宮崎)平成26年10月25日
60. メタボリックシンドロームに伴う脂肪肝炎とPemtの意義 中司敦子、村上和敏、勅使河原早苗、片山晶博、布上朋和、天田雅文、山口哲史、江口潤、和田淳 第35回日本肥満学会(宮崎)平成26年10月25日
61. メタボリックシンドロームにおけるGalectin-9の意義 布上朋和、勅使河原早苗、

柴田祐助、天田雅文、片山晶博、村上和敏、江口潤、中司敦子、和田淳 第35回日本肥満学会(宮崎)平成26年10月25日

62. 脂肪細胞における接着とアクチン重合を介したACAMの抗肥満作用 村上和敏、江口潤、中司敦子、和田淳 第35回日本肥満学会(宮崎)平成26年10月25日

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表1 アルブミン尿のステージ (A1, A2, A3) における臨床パラメータの比較 (2 型糖尿病患者 n=85)

	A1	A2	A3	Total	Kruskal-Wallis
Number (male/female)	36 (19 / 17)	25 (15 / 10)	24 (15 / 9)	85 (49 / 36)	
Age (years)	63.8±11.3	61.0±12.5	63.3±12.3	62.9±11.3	0.006*
BMI (kg/m ²)	24.8±5.1	25.7±4.5	24.2±3.9	24.9±4.6	0.543
SBP (mmHg)	124.0±12.6	129.5±20.5	126.0±19.7	126.2±17.3	0.484
DBP (mmHg)	73.9±10.3	72.6±8.1	69.1±14.4	72.2±11.1	0.261
HbA1c (%)	7.31±0.64	7.24±0.90	7.38±1.17	7.31±0.87	0.850
Total protein (g/L)	70.4±4.3	70.7±4.8	66.1±6.5	69.3±5.4	0.003*
Albumin (g/L)	42.9±2.5	41.2±3.2	35.7±7.0	40.4±5.3	1.80x10 ^{-16**}
Cr (μmol/L)	66.4±13.3	78.3±26.3	144.2±70.3	91.9±52.3	4.86x10 ^{-10**}
UN (mmol/L)	5.5±1.5	7.1±2.7	10.0±3.8	7.3±3.3	5.92x10 ^{-8**}
Uric acid (μmol/L)	305.8±61.5	352.8±96.2	396.2±68.0	344.6±83.1	9.68x10 ^{-5**}
T-Cho (mmol/L)	5.09±0.94	4.86±0.84	5.06±1.14	4.99±0.97	0.689
TG (mmol/L)	1.65±0.92	1.70±1.10	2.16±1.74	1.81±1.26	0.780
HDL-C (mmol/L)	1.49±0.41	1.35±0.31	1.23±0.39	1.38±0.39	0.031*
LDL-C (mmol/L)	2.85±0.81	2.70±0.65	2.80±0.95	2.79±0.80	0.271
eGFR (mL/min)	74.5±16.3	67.9±19.2	42.4±19.0	63.5±22.4	6.66x10 ^{-9**}
ACR (mg/gCr)	12.7±6.0	114.3±72.6	1424±996	441.2±812	1.81x10 ^{-16**}
Fetuin-A (ng/gCr)	0.40±0.43	0.60±0.53	1.57±1.13	0.79±0.87	7.29x10 ^{-8**}
α1-microglobulin (μg/gCr)	4.24±4.03	6.30±5.12	17.83±18.08	8.68±11.74	8.84x10 ^{-9**}
Orosomuroid (ng/gCr)	17.5±9.1	17.9±8.7	91.4±87.2	38.5±57.0	3.34x10 ^{-8**}

BMI, body mass index; SBP, Systolic Blood Pressure; DPB, Diastolic Blood Pressure; Cr, serum creatinine; UN, serum urea nitrogen; T-Cho, Total cholesterol; TG, Triglyceride; HDL-C, HDL cholesterol; LDL-C, LDL cholesterol; eGFR, estimated glomerular filtration ratio; ACR, albumin / creatinine ratio; *, p < 0.05; **, p < 0.01.

表2 GFR ステージ (G1, G2, G3, G4) における臨床パラメータの比較 (2型糖尿病患者 n=85)

	G1	G2	G3	G4	Total	Kruskal-Wallis
Number (male/female)	9 (6 / 3)	42 (22 / 20)	29 (19 / 10)	5 (2 / 3)	85 (49 / 36)	
Age (years)	51.9±13.9	62.9±10.3	66.5±9.2	59.6±15.3	62.9±11.3	0.647
BMI (kg/m ²)	27.6±8.1	25.1±4.6	24.1±3.1	22.6±2.2	24.9±4.6	0.155
SBP (mmHg)	129.7±13.8	127.6±17.3	124.0±19.1	120.2±11.1	126.2±17.3	0.640
DBP (mmHg)	76.5±13.8	74.6±8.0	69.5±12.4	59.4±9.2	72.2±11.1	0.006
HbA1c (%)	7.54±0.79	7.27±0.83	7.40±0.94	6.68±0.82	7.31±0.87	0.323
Total protein (g/L)	70.4±3.7	70.9±4.4	67.6±6.2	63.0±5.0	69.3±5.44	0.002*
Albumin (g/L)	41.4±4.6	42.3±2.9	38.3±6.6	33.4±5.0	40.4±5.3	1.10x10 ^{-4**}
Cr (μmol/L)	60.9±16.0	65.9±11.6	115.7±40.7	227.1±88.2	91.9±52.3	1.89 x10 ^{-17**}
UN (mmol/L)	5.5±2.2	5.8±1.6	8.6±2.7	14.6±5.1	7.3±3.3	9.85x10 ^{-12**}
Uric acid (μmol/L)	329.1±39.5	312.8±74.4	388.7±82.6	391.4±99.8	344.6±83.1	6.59 x10 ^{-4**}
T-Chol (mmol/L)	5.11±0.96	4.97±0.89	5.06±1.02	4.52±1.39	4.99±0.97	0.695
TG (mmol/L)	2.04±1.30	1.68±1.06	1.95±1.57	1.58±0.63	1.81±1.26	0.487
HDL-C (mmol/L)	1.25±0.26	1.44±0.37	1.32±0.41	1.45±0.51	1.38±0.39	0.427
LDL-C (mmol/L)	2.96±0.95	2.79±0.67	2.83±0.92	2.28±0.87	2.79±0.80	0.740
eGFR (mL/min)	96.2±15.6	74.8±8.1	44.4±9.2	20.6±8.3	63.5±22.4	1.16x10 ^{-30**}
ACR (mg/gCr)	179.7±451.6	108.3±227.7	824.5±0.80	1484±1168	441.2±812	1.09x10 ^{-5**}
Fetuin-A (ng/gCr)	0.39±0.39	0.49±0.45	1.25±1.18	1.34±0.80	0.79±0.87	3.89x10 ^{-4**}
α1-microglobulin (μg/gCr)	3.74±4.26	4.94±4.92	11.90±11.04	30.32±29.93	8.68±11.74	2.49x10 ^{-6**}
Orosomuroid (ng/gCr)	22.5±11.4	19.7±14.8	62.7±84.3	84.4±69.4	38.5±57.0	2.21x10 ^{-3**}

BMI, body mass index; SBP, Systolic Blood Pressure; DPB, Diastolic Blood Pressure; Cr, serum creatinine; UN, serum urea nitrogen; T-Chol, Total cholesterol; TG, Triglyceride; HDL-C, HDL cholesterol; LDL-C, LDL cholesterol; eGFR, estimated glomerular filtration ratio; ACR, albumin / creatinine ratio; *, p < 0.05; **, p < 0.01.

表3 尿中シアル酸糖蛋白質排泄量と臨床パラメータとの単相関 (2 型糖尿病患者 n=85)

	Fetuin-A (ng/gCr)	α 1-microglobulin (μ g/gCr)	Orosomuroid (ng/gCr)
Age (years)	R=0.009, p=0.937	R=0.123, p=0.261	R=-0.008, p=0.944
BMI (kg/m ²)	R=-0.139, p=0.205	R=-0.067, p=0.541	R=-0.032, p=0.770
SBP (mmHg)	R=0.043, p=0.693	R=-0.005, p=0.964	R=0.103, p=0.348
DBP (mmHg)	R=-0.145, p=0.186	R=-0.214, p=0.049*	R=-0.027, p=0.807
HbA1c (%)	R=0.113, p=0.307	R=0.110, p=0.318	R=0.056, p=0.612
Total protein (g/L)	R=-0.261, p=0.017*	R=-0.275, p=0.012*	R=-0.213, p=0.053
Albumin (g/L)	R=-0.377, p=4.36x10 ^{-4**}	R=-0.376, p=4.67x10 ^{-4**}	R=-0.394, p=2.28x10 ^{-4**}
Cr (μ mol/L)	R=0.368, p=5.23x10 ^{-4**}	R=0.388, p=2.40x10 ^{-4**}	R=0.399, p=1.53x10 ^{-4**}
UN (mmol/L)	R=0.405, p=1.31x10 ^{-4**}	R=0.439, p=2.96x10 ^{-5**}	R=0.363, p=6.85x10 ^{-4**}
Uric acid (μ mol/L)	R=0.079, p=0.474	R=0.073, p=0.509	R=0.295, p=0.006**
T-Cho (mmol/L)	R=-0.099, p=0.372	R=-0.080, p=0.471	R=0.062, p=0.576
TG (mmol/L)	R=0.060, p=0.582	R=0.055, p=0.615	R=0.186, p=0.088
HDL-C (mmol/L)	R=-0.313, p=0.004**	R=-0.258, p=0.017*	R=-0.244, p=0.025*
LDL-C (mmol/L)	R=-0.007, p=0.948	R=-0.043, p=0.697	R=0.067, p=0.544
eGFR (mL/min)	R=-0.395, p=1.80x10 ^{-4**}	R=-0.472, p=5.23x10 ^{-6**}	R=-0.431, p=3.90x10 ^{-5**}
ACR (mg/gCr)	R=0.548, p=5.76x10 ^{-8**}	R=0.466, p=7.02x10 ^{-6**}	R=0.652, p=1.40x10 ^{-11**}

BMI, body mass index; SBP, Systolic Blood Pressure; DPB, Diastolic Blood Pressure; Cr, serum creatinine; UN, serum urea nitrogen; T-Cho, Total cholesterol; TG, Triglyceride; HDL-C, HDL cholesterol; LDL-C, LDL cholesterol; eGFR, estimated glomerular filtration ratio; ACR, albumin / creatinine ratio; *, p < 0.05; **, p < 0.01.

表4 尿中シアル酸糖蛋白質排泄量を従属変数とした重回帰分析（2型糖尿病患者 n=85）

Dependent variable	Independent variable	Unstandardized coefficient		Standardized coefficient	t value	P value	Adjusted R ²
		B	Standard error	β			
Fetuin-A (ng/gCr)	eGFR (mL/min)	-0.076	0.042	-0.196	-1.813	0.074	0.335
	ACR (mg/gCr)	0.004	0.001	0.395	3.645	4.71x10 ^{-4**}	
	HDL-C (mmol/L)	-4.048	2.035	-0.182	-1.989	0.050	
α1-microglobulin (μg/gCr)	eGFR (mL/min)	-0.138	0.053	-0.263	-2.617	0.011*	0.423
	ACR (mg/gCr)	0.007	0.001	0.461	4.560	4.71x10 ⁻⁵	
	HDL-C (mmol/L)	-1.443	2.548	-0.048	-0.566	0.573	
Orosomucoid (ng/gCr)	eGFR (mL/min)	-0.136	0.212	-0.053	-0.642	0.523	0.605
	ACR (mg/gCr)	0.049	0.006	0.703	8.405	1.19x10 ^{-12**}	
	HDL-C (mmol/L)	-26.65	10.240	-0.183	-2.603	0.011	

Estimated glomerular filtration rate (eGFR), albumin / creatinine ratio and HDL cholesterol (HDL-C) are used as independent variables in stepwise multiple linear regression analysis in model 1. In model 2, all parameters are included in the analysis. *, p < 0.05; **, p < 0.01.

表5 ステップワイズ多項ロジスティック解析による微量アルブミン尿陽性あるいは eGFR 60 mL/min 未満のリスク因子としての尿中シアル酸糖蛋白質排泄量（2型糖尿病患者 n=85）

Risk factor for microalbuminuria	B	Standard error	p	Odds ratio (95% confident intervals)	Predictive accuracy
Fetuin-A (ng/gCr) (1SD increments)	1.784	0.539	9.424x10 ^{-4**}	4.721 (1.881-11.844)	74.1%

Risk factor for GFR < 60 mL/min	B	Standard error	p	Odds ratio (95% confident intervals)	Predictive accuracy
Fetuin-A (ng/gCr) (1SD increments)	1.516	0.434	4.755x10 ^{-4**}	3.739 (1.785-7.841)	72.9%

** , p < 0.01.

図1 アルブミン尿のステージ (A1, A2, A3) および GFR ステージ (G1, G2, G3, G4) における尿中アルブミンおよびシアル酸糖蛋白質排泄量 (2型糖尿病患者 n=85)

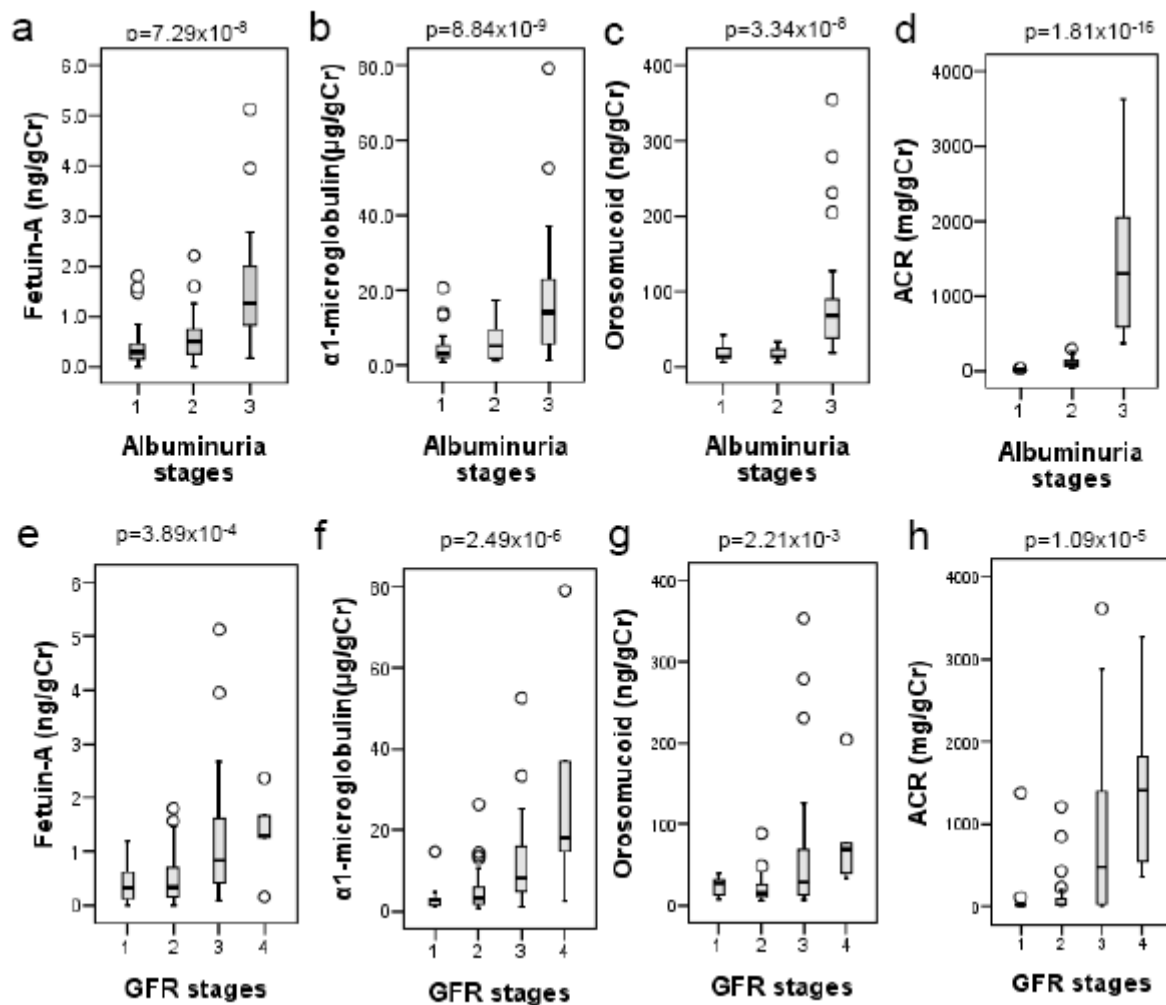
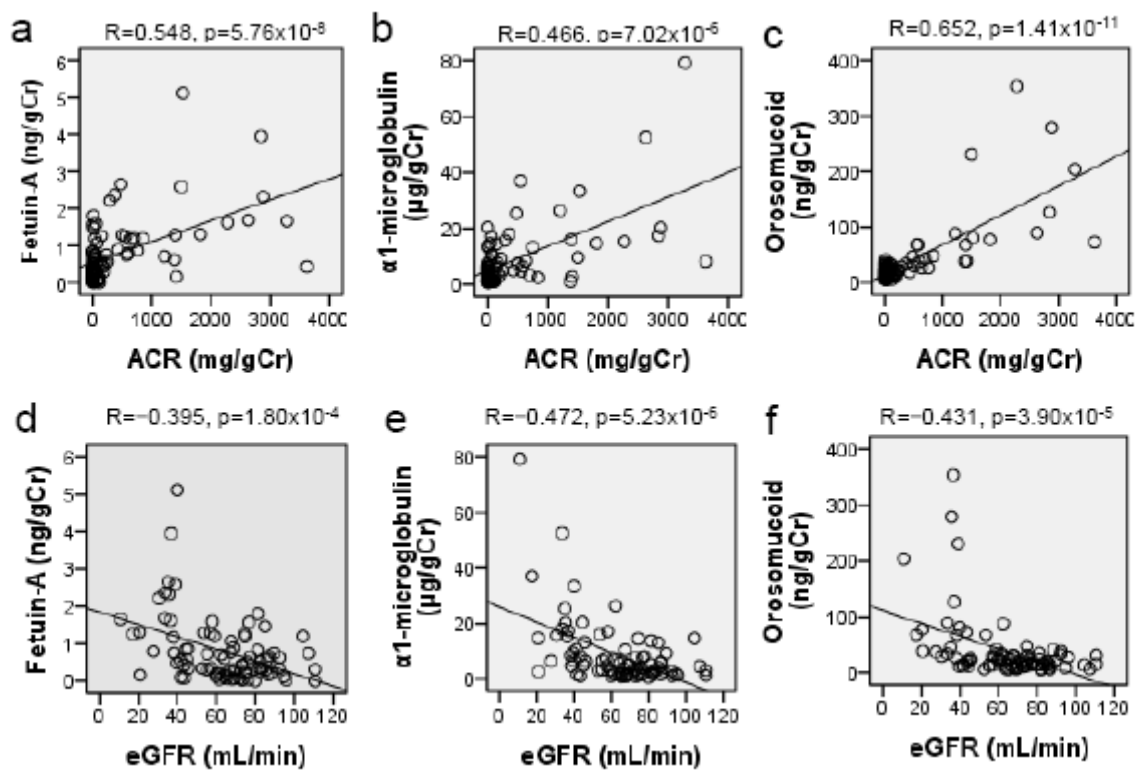


図2 アルブミン尿のステージ（A1, A2, A3）およびGFRステージ（G1, G2, G3, G4）における尿中アルブミンおよびeGFRとシアル酸糖蛋白質排泄量の単相関（2型糖尿病患者n=85）



4. Fetuin-A (AhsG)臓器特異的ノックアウトマウスの樹立

研究分担者 中司敦子・岡山大学病院・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教

研究分担者 江口潤・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教

研究分担者 勅使川原早苗・岡山大学院医歯薬学総合研究科・地域医療人材育成講座・助教

研究代表者 和田淳・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・准教授

研究要旨

レクチンマイクロアレイによる糖鎖プロファイルとレクチンアフィニティークロマトグラフィーによる糖蛋白質の同定は、尿中新規バイオマーカーの同定に有用な方法であり、fetuin-Aを同定した。さらに糖尿病性腎症患者の尿中fetuin-A排泄量は、腎症の進展に伴って増加することを本研究で明らかにした。Fetuin-Aの糖尿病性腎症における病態における役割を明らかにするために、臓器特異的なfetuin-Aノックアウトマウスの作製を行った。ターゲットコンストラクトを構築し、マウスES細胞に遺伝子導入して、リコンビネーションを起こした細胞についてPCRを用いてスクリーニングして陽性細胞を得た。現在キメラマウスを作製している。

A. 研究目的

レクチンマイクロアレイによる糖鎖プロファイルとレクチンアフィニティークロマトグラフィーによる糖蛋白質の同定は、尿中新規バイオマーカーの同定に有用な方法であり、fetuin-Aを同定した。さらに糖尿病性腎症患者の尿中fetuin-A排泄量は、腎症の進展に伴って増加することを本研究で明らかにした。

Fetuin-A (α -HS glycoprotein; AHS) mRNAは主に肝臓および骨組織で発現しており、Fetuin-Aそのものは血中にも分泌されている。またその発現量は少ないものの腎結石などの疾患では腎組織のFetuin-A mRNAの発現が上昇することが知られている(*Urolithiasis* 42(1), 29-37, 2014)。従って糖尿病性腎症が進展してくると、血中に存在する肝臓や骨組織由来のfetuin-Aが、糸球体への濾過が亢進して尿中排泄量が亢進する可能性と、腎局所でのmRNA発現が亢進して尿中排泄が上昇する可能性が考えられる。

従ってFetuin-Aの糖尿病性腎症における病態における役割を明らかにするために、臓器特異的なfetuin-Aノックアウトマウスの作製は有用であると考えた。

B. 研究方法

図1にあるようにエクソン1の前後にloxP配列を有するコンストラクトを構築した。5'末端には7 Kb、3'末端には10.2Kbのアームを有している。図2および図3には野生型とノックアウトマウスのシーケンスを示した。

C. 研究結果

ターゲットコンストラクトを構築し、マウスES細胞に遺伝子導入して、リコンビネーションを起こした細胞についてPCRを用いてスクリーニングして陽性細胞を得た。現在キメラマウスを作製している。

D. 考察

Creトランジェニックマウスを用いて肝臓特異的なfetuin-Aノックアウトマウスや腎尿細管細胞特異的ノックアウトマウスを作出する予定である。これらのマウスにストレプトゾトシンを投与した1型糖尿病モデルや、高脂肪高蔗糖食を用いた肥満糖尿病マウスモデルを作成して、腎症の進展について検討する予定である。

Fetuin-Aは異所性石灰化の抑制因子あるいは、炎症を抑制する因子として知られている。またFetuin-Aは肥満状態で発現が亢進し、脂肪細胞におけるアディポネクチンmRNAの発現を抑制して血清アディポネクチン濃度を低下させると報告されている。それによってインスリン抵抗性、糖尿病と腎症の進展が促進されることが考えられている(*JASN* 21, 406-412, 2010)。さらにfetuin-Aは遊離脂肪酸(FFA)の担体であり、それがToll-like receptor 4 (TLR4)に結合することも報告されている。FFA-fetuin-A複合体はTLR4受容体を刺激してFFAによる炎症を惹起して糖尿病における慢性炎症とそれによるインスリン抵抗性を惹起していると報告されている(*Nature Medicine* 18(8), 1279-1285, 2012)。

Fetuin-Aが腎症の進展に従ってその尿中排泄が増加するが、それが腎症の進展に抑制的に作用しているのかあるいは促進的に作用しているのか

は不明である。このたびのfetuin-A臓器特異的ノックアウトマウスの作出によってそのメカニズムが明らかになるものと思われる。

E . 結論

Fetuin-Aの糖尿病性腎症における病態における役割を明らかにするために、臓器特異的なfetuin-Aノックアウトマウスの作製を行った。ターゲットコンストラクトを構築し、マウスES細胞に遺伝子導入して、リコンビネーションを起こした細胞についてPCRを用いてスクリーニングして陽性細胞を得た。現在キメラマウスを作製している。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Nakatsuka A, Wada J, Hida K, Hida A, Eguchi J, Teshigawara S, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Ogawa D, Kagechika H, Makino H. RXR antagonism induces G0/G1 cell cycle arrest and ameliorates obesity by up-regulating the p53-p21^{Cip1} pathway in adipocytes. *J Pathol* 226(5), 784-795, 2012
2. Teshigawara S, Wada J, Hida K, Nakatsuka A, Eguchi J, Murakami K, Kanzaki M, Inoe K, Terami T, Katayama A, Iseda I, Matsushita Y, Miyatake N, McDonald JF, Hotta K, Makino H. Serum vaspin concentrations are closely related to insulin resistance and rs77060950 at SERPINA12 genetically defines distinct group with higher serum levels in Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 97(7), E1202-1207, 2012
3. Kawai D, Takaki A, Nakatsuka A, Wada J, Tamaki N, Yasunaka T, Koike K, Tsuzaki R, Matsumoto K, Miyake Y, Shiraha H, Morita M, Makino H, Yamamoto K. Hydrogen-rich water prevents progression of non-alcoholic steatohepatitis and accompanying hepatocarcinogenesis in mice. *Hepatology* 56(3), 912-921, 2012
4. Kanzaki M, Wada J, Kikumoto Y, Akagi S, Nakao K, Sugiyama H, Makino H. The therapeutic potential of synthetic human atrial natriuretic peptide in nephrotic syndrome: a randomized controlled trial. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 5, 91-96, 2012
5. Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Hida K, Eguchi J, Horiguchi CS, Ogawa D, Matsuki Y, Hiramatsu R, Yagita H, Kakuta S, Iwakura Y, Makino H. Vaspin is an adipokine ameliorating ER stress in obesity as a ligand for cell-surface GRP78/MTJ-1 complex. *Diabetes* 61(11), 2823-2832, 2012
6. Tachibana H, Ogawa D, Matsushita Y, Bruemmer D, Wada J, Teshigawara S, Eguchi J, Sato-Horiguchi C, Uchida HA, Shikata K, Makino H. Activation of liver x receptor inhibits osteopontin and ameliorates diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 23(11), 1835-1846, 2012
7. Inoue J, Wada J, Teshigawara S, Hida K, Nakatsuka A, Takatori U, Kojo S, Akagi S, Nakao K, Miyatake N, McDonald JF, Makino H. The serum vaspin levels are reduced in Japanese chronic hemodialysis patients. *BMC Nephrol* 13(1), 163, 2012
8. Wada J and Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Clin Sci* 124(3), 139-152, 2013
9. Sugiyama K, Sada KE, Kurosawa M, Wada J, Makino H. Current status of the treatment of microscopic polyangiitis and granulomatosis with polyangiitis in Japan. *Clin Exp Nephrol* 17(1), 51-58, 2013
10. Murakami K, Wada J, Ogawa D, Horiguchi CS, Miyoshi T, Sasaki M, Uchida HA, Nakamura Y, Makino H. The effects of telmisartan treatment on the abdominal fat depot in patients with metabolic syndrome and essential hypertension: Abdominal fat Depot Intervention Program of Okayama (ADIPO). *Diab Vasc Dis Res* 10(1), 93-96, 2013
11. Sato-Horiguchi C, Ogawa D, Wada J, Tachibana H, Kodera R, Eguchi J, Nakatsuka A, Terami N, Shikata K, Makino H. Telmisartan attenuates diabetic nephropathy by suppressing oxidative stress in db/db mice. *Nephron Exp Nephrol* 121(3-4), e97-e108, 2013
12. Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Hida K, Eguchi J, Ogawa D, Matsuki Y, Hiramatsu R, Tagita H, Kakuta S, Iwakura Y, Makino H. Vaspin inhibits apoptosis of endothelial cells as a ligand for cell-surface GRP78/VDAC complex. *Circ Res* 112(5), 771-780, 2013
13. Kurose Y, Wada J, Kanzaki M, Teshigawara S, Nakatsuka A, Murakami K, Inoue K, Terami T, Katayama A, Watanabe M, Higushi C, Eguchi J, Miyatake N, Makino H. Serum galectin-9 levels are elevated in the patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 14, 23, 2013
14. Nakatsuka A, Wada J, Makino H. Cell cycle abnormality in metabolic syndrome and nuclear

receptors as an emerging therapeutic target. *Acta Medica Okayama* 67(3), 129-134, 2013

15. Inoue K, Wada J, Eguchi J, Nakatsuka A, Teshigawara S, Murakami K, Ogawa D, Terami T, Katayama A, Tone A, Iseda I, Hida K, Yamada M, Ogawa T, Makino H. Urinary fetuin-A is a novel marker for diabetic nephropathy in type 2 diabetes identified by lectin microarray. *PLoS ONE* 8(10): e77118, 2013
16. Terami T, Wada J, Inoue K, Nakatsuka A, Ogawa D, Teshigawara S, Murakami K, Katayama A, Eguchi J, Makino H. Urinary angiotensinogen is a marker for tubular injuries in patients with type 2 diabetes. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 6, 233-240, 2013
17. Ogawa D, Eguchi J, Wada J, Terami N, Hatanaka T, Tachibana H, Nakatsuka A, Horiguchi CS, Nishii N, Makino H. Nuclear hormone receptor expression in mouse kidney and renal cell lines. *PLoS ONE* 9(1), e85594, 2014
18. Watanabe M, Nakatsuka A, Murakami K, Inoue K, Terami T, Higuchi C, Katayama A, Teshigawara S, Eguchi J, Ogawa D, Watanabe E, Wada J, Makino H. Pemt deficiency ameliorates endoplasmic reticulum stress in diabetic nephropathy. *PLoS ONE* 9(3), e92647, 2014
19. Miyoshi T, Nakamura K, Yoshida M, Miura D, Oe H, Akagi S, Sugiyama H, Akazawa K, Yonezawa T, Wada J and Ito H. Effect of vildagliptin, a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor, on cardiac hypertrophy induced by chronic beta-adrenergic stimulation in rats. *Cardiovascular Diabetology* 13:43, 2014
20. Terami N, Ogawa D, Tachibana H, Hatanaka T, Wada J, Nakatsuka A, 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. *PLoS ONE* 9(6), e100777, 2014.
21. Ono T, Shikata K, Obika M, Miyatake N, Koder R, Hirota D, Wada J, Kataoka H, Ogawa D, Makino H. Factors associated with remission and/or regression of microalbuminuria in type 2 diabetes mellitus. *Acta Med Okayama* 68(4), 235-241, 2014
22. Hishikawa N, Yamashita T, Deguchi K, Wada J, Shikata K, Makino H, Abe K. *Eur J Neurol* 2014 Sep 15. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

1. PEMT deficiency protects from obesity and insulin resistance, but induces severe steatohepatitis. シンポジウム3:慢性炎症とイ

ンスリン抵抗性 和田淳、中司敦子、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月17日

2. Identification of transmembrane proteins expressed in adipocytes under obese-state and the roles soluble forms in fat accumulation. Jun Wada, International Symposium for the Study of Obesity “Translational Science and Epidemiology on Adipomedicine; From Lipodystrophy to Obesity”, Oct 13-14, 2012, Shiran Kaikan of Kyoto University, Kyoto
3. ガレクチノミクス解析からグライコミクス解析へ 和田淳 平成24年度金沢大学戦略的研究推進プログラム - 次世代重点研究プログラム - 第2回シンポジウム 金沢市文化ホール(金沢市)平成24年9月14日
4. Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT) deficiency protects from obesity and insulin resistance but promote non-alcoholic steatohepatitis with tumorigenesis. Atsuko Nakatsuka, Jun Wada, Kazutoshi Murakami, Takahiro Terami, Akihiro Katayama, Jun Eguchi, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 29, 2013
5. The pathological role of galectin-9 in metabolic syndrome. Sanae Teshigawara, Jun Wada, Motoko Kanzaki, Kazutoshi Murakami, Akihiro Katayama, Takahiro Terami, Kentaro Inoue, Jun Eguchi, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 30, 2013
6. Soluble form of transmembrane protein, Gpnmb, is a novel adipokine with a protective role in fatty liver disease in obesity. Akihiro Katayama, Jun Wada, Atsuko Nakatsuka, Jun Eguchi, Kazutoshi Murakami, Motoko Kanzaki, Sanae Teshigawara, Takahiro Terami, Kentaro Inoue, Kazuyuki Hida, Hirofumi Makino, Keystone Symposia, Diabetes — New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment (J6), Keystone Resort, Keystone, Colorado, January 19, 2013
7. メタボリックシンドロームにおける Galectin-9 の機能解析 神崎資子、和田淳、中司敦子、村上和敏、勅使川原早苗、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、四方賢一、秋葉久弥、八木田秀雄、榎野博史 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜(横浜市)平成24年5月17日
8. メタボリックシンドロームにおける Gpnmb の意義 片山晶博、和田淳、中司敦子、村上

- 和敏、神崎資子、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、肥田和之、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 17 日
9. 糖尿病性腎症発症および病態進展における miR-34a の発現変化とその機能解析 高塚哲全、四方賢一、小寺亮、宮本聡、廣田大昌、梶谷展生、佐藤千景、小川大輔、和田淳、片岡仁美、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 17 日
 10. 早期糖尿病性腎症における Telmsartan の抗酸化作用の検討 佐藤千景、小川大輔、松下裕一、橘洋美、小寺亮、廣田大昌、宮本聡、梶谷展生、和田淳、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 17 日
 11. ACAM (adipocyte adhesion molecule) の脂肪分化とメタボリックシンドロームにおける意義 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、神崎資子、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 18 日
 12. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングの検討 井上謙太郎、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、勅使川原早苗、黒瀬祐子、片山晶博、樋口千草、渡邊真由、小川智優央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 13. 2 型糖尿病患者の腎症に関連する因子の横断的解析 小比賀美香子、四方賢一、小野哲一郎、梶谷展生、小寺亮、宮本聡、廣田大昌、村上和敏、佐藤千景、小川大輔、和田淳、片岡仁美、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 14. メタボリック症候群におけるマクロファージ IRF4 (Interferon Regulatory Factor 4) の病態生理学的意義 江口潤、和田淳、槇野博史、Evan Rosen 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 15. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyl transferase (PEMT) の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 16. PSGL-1 を阻害することにより、肥満マウスにおける内臓脂肪と肝臓の炎症とインスリン抵抗性が改善される 廣田大昌、四方賢一、佐藤千景、高塚哲全、宮本聡、小寺亮、梶谷展生、小川大輔、和田淳、片岡仁美、和田淳、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 17. 糖尿病性腎症モデルラットにおけるメタロチオネイン (metallothionein) の発現の検討 橘洋美、小川大輔、松下裕一、佐藤千景、和田淳、喜多村真治、前島洋平、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 18. 2 型糖尿病における腎症の発症および進展に關与する因子の解析 小野哲一郎、四方賢一、小比賀美香子、梶谷展生、小寺亮、宮本聡、廣田大昌、村上和敏、佐藤千景、小川大輔、和田淳、片岡仁美、槇野博史 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 5 月 19 日
 19. グライコーム解析による糖尿病性腎症バイオマーカーの探索 井上謙太郎、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、黒瀬祐子、片山晶博、勅使川原早苗、樋口千草、渡邊真由、小川智優央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 55 回日本腎臓学会年次学術集会 パシフィコ横浜（横浜市）平成 24 年 6 月 3 日
 20. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyl transferase (PEMT) の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、槇野博史 第 33 回日本肥満学会 ホテルグランビア京都（京都市）平成 24 年 10 月 11 日
 21. ACAM (adipocyte adhesion molecule) の脂肪分化と肥満症における意義 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、神崎資子、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、槇野博史 ホテルグランビア京都（京都市）平成 24 年 10 月 12 日
 22. メタボリックシンドロームにおける Gpmb の意義 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、渡邊真由、樋口千草、肥田和之、四方賢一、槇野博史 ホテルグランビア京都（京都市）平成 24 年 10 月 12 日
 23. GWAS で同定されたウエスト：ヒップ比関

- 連 SNP と CT で測定した内臓脂肪面積との関係 堀田紀久子、中田由夫、松尾友明、和田淳、小谷一晃、嶺尾郁夫、浜口和之、益崎裕章、船橋徹、宮崎滋、徳永勝人、山田研太郎、田中喜代次、花房俊昭、及川眞一、坂田利家、松澤佑次、中尾一和 第 33 回日本肥満学会 ホテルグランピア京都(京都市)平成 24 年 10 月 12 日
24. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングによる新規バイオマーカーの同定(U-CARE 研究) 和田淳、井上謙太郎、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、黒瀬祐子、片山晶博、樋口千草、渡邊真由、小川智央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会(東京)平成 25 年 5 月 10 日
 25. Vaspin による小胞体ストレス制御と糖尿病性腎症の治療 中司敦子、和田淳、勅使川原早苗、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、江口潤、小川大輔、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会 (東京)平成 25 年 5 月 10 日
 26. 糖尿病性腎症における PEMT 阻害の意義 中司敦子、和田淳、渡邊真由、勅使川原早苗、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、江口潤、小川大輔、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会 (東京)平成 25 年 5 月 11 日
 27. マウス腎および培養腎細胞における核内受容体の発現と高糖濃度刺激による発現変化の検討 寺見直人、小川大輔、橘洋美、堀口千景、小寺亮、江口潤、中司敦子、和田淳、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会(東京)平成 25 年 5 月 11 日
 28. 嚢胞形成の新規分子機構 - ACAM/CLMP 欠損マウスの解析 - 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、佐藤美和、寺見直人、小川大輔、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会 (東京)平成 25 年 5 月 12 日
 29. 内臓脂肪蓄積に伴って強発現する膜蛋白 Gpmb の脂肪肝炎抑制効果と可溶性分泌型の関与 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、渡邊真由、樋口千草、肥田和之、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 16 日
 30. Vaspin inhibits apoptosis of endothelial cells as ligand for cell-surface GRP78/VDAC complex. J Wada, A Nakatsuka, S Teshigawara, K Murakami, T Terami, K Inoue, A Katayama, C Higuchi, M Watanabe, J Eguchi, H Makino. 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 31. メタボリックシンドロームにおける Galectin-9-Tim-3 経路の意義 勅使川原早苗、和田淳、神崎資子、江口潤、中司敦子、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 32. ACAM (adipocyte adhesion molecule) /CLMP の脂肪分化と肥満症における意義 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 33. 糖尿病マウス腎および高糖濃度刺激下での培養腎細胞における核内受容体の発現解析 寺見直人、小川大輔、橘洋美、堀口千景、小寺亮、江口潤、中司敦子、和田淳、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 34. 糖毒性患者にインスリン療法導入後、6 ヶ月以内に離脱可能を推測させる導入前における内因性インスリン分泌能マーカーの検討 肥田和之、伊勢田泉、太田徹、林恭加、柴田祐助、利根淳仁 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 35. CSII を施行されている 1 型糖尿病患者の血糖コントロールに影響を与える因子について 利根淳仁、伊勢田泉、太田徹、林恭加、柴田祐助、真邊香江、藤原喜子、肥田和之 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 17 日
 36. 糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングの検討 井上謙太郎、和田淳、小川大輔、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、勅使川原早苗、片山晶博、小川智央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本)平成 25 年 5 月 18 日
 37. メタボリックシンドロームにおける脂肪組織由来血清 miRNA の同定 樋口千草、和田淳、中司敦子、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、渡邊真由、江口潤、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成 25 年 5 月 18 日
 38. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyltransferase(PEMT)の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、渡邊真由、樋口千

- 草、江口潤、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 18 日
39. メタボリック症候群におけるアルブミン尿と炎症およびインスリン抵抗性についての検討 梶谷展生、四方賢一、石井啓太、平田教至、小寺亮、廣田大昌、和田淳、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 18 日
40. 当院におけるシタグリプチンの使用経験 重松照伸、宮下雄博、岡田震一、藤井総一郎、早川信彦、岡崎守宏 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本）平成 25 年 5 月 18 日
41. 高齢糖尿病患者におけるグリメピリドとシタグリプチン併用症例の検討 宮下雄博、早川信彦 第 55 回日本老年医学会学術集会（大阪）平成 25 年 6 月 4 日
42. Nuclear Hormone Receptor Expression in Mouse Kidney and Renal Cell Lines. D Ogawa, J Eguchi, H Tachibana, C Sato-Horiguchi, T. Hatanaka, A Nakatsuka, J Wada, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 22, 2013
43. Phosphatidylethanolamine N-Methyltransferase (PEMT) Deficiency Protects from Obesity and Insulin Resistance but Promote Steatohepatitis with Tumorigenesis. A Nakatsuka, J Wada, K Murakami, T Terami, J Eguchi, D Ogawa, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 23, 2013
44. ACAM (Adipocyte Adhesion Molecule) / CLMP Inhibits Adipocyte Hypertrophy in Obesity. K Murakami, J Wada, J Eguchi, D Ogawa, T Terami, N Terami, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 23, 2013
45. 肥満において Pemt 欠損がもたらす脂肪肝炎とエピゲノム 中司敦子、和田淳、渡邊真由、樋口千草、天田雅文、布上朋和、片山晶博、寺見隆宏、勅使川原早苗、村上和敏、江口潤、槇野博史 第 34 回日本肥満学会年次学術集会（東京）平成 25 年 10 月 12 日
46. 内臓脂肪蓄積に伴って強発現する膜蛋白 Gpmb の脂肪肝炎抑制効果と可溶性分泌型の関与 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、勅使川原早苗、寺見隆宏、樋口千草、布上朋和、天田雅文、四方賢一、肥田和之、槇野博史 第 34 回日本肥満学会年次学術集会（東京）平成 25 年 10 月 12 日
- 47.
48. 高齢発症 1 型糖尿病患者の膵島関連抗体に関する分析 三小田亜希子、松岡孝、藤原大介、武川郷、鈴木貴博、高橋健二 第 25 回日本老年医学会中国地方会（岡山）平成 25 年 11 月 23 日 肥満により脂肪組織に誘導される膜蛋白 Gpmb の脂肪肝炎抑制効果 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、勅使川原早苗、樋口千草、布上朋和、天田雅文、肥田和之、槇野博史 第 57 回日本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 22 日
49. 2 型糖尿病マウスにおける SGLT2 阻害薬ダパグリフロジンの腎保護効果の検討 小川大輔、寺見直人、畑中崇志、橘洋美、江口潤、中司敦子、和田淳、槇野博史 第 57 回日本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 22 日
50. エクソーム解析を行った若年発症糖尿病の 1 例 布上朋和、江口潤、天田雅文、和田淳、四方賢一、槇野博史 第 57 回日本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 23 日
51. 糖尿病腎症第 1 期および第 2 期における腎機能低下要因の解析 小比賀美香子、四方賢一、小野哲一郎、小寺亮、江口潤、廣田大昌、村上和敏、中司敦子、小川大輔、和田淳、片岡仁美、槇野博史 第 57 回日本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 24 日
52. ACAM (adipocyte adhesion molecule) /CLMP の一次繊毛機能を介した脂肪細胞分化と肥満症における意義 村上和敏、和田淳、佐藤美和、江口潤、布上朋和、片山晶博、中司敦子、小川大輔、四方賢一、槇野博史 第 57 回日本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 24 日
53. メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT) の意義 中司敦子、和田淳、村上和敏、勅使川原早苗、片山晶博、渡邊真由、樋口千草、天田雅文、布上朋和、江口潤、小川大輔、槇野博史 第 57 回日本糖尿病学会総会（大阪）平成 26 年 5 月 24 日
54. ワークショップ 2 動物モデルを用いた NASH 病態解析 脂肪肝炎における Pemt の意義 中司敦子、松山誠、村上和敏、勅使川原早苗、江口潤、小川大輔、高木章乃夫、福島正樹、山本和秀、槇野博史、和田淳 第 1 回肝臓と糖尿病・代謝研究会（東京）平成 26 年 7 月 4 日
55. 早期糖尿病性腎症患者における尿中 TFF3 (Urinary Trefoil Factor 3) と尿中アルブミンの関連についての検討 寺見直人、小川大輔、山成俊夫、杉山斉、畑中崇志、和田淳、四方賢一、西井尚子、槇野博史 第 57 回日本腎臓学会総会（横浜）平成 26 年 7 月 4 日
56. 顕性蛋白尿期の 2 型糖尿病患者におけるア

ルダクトンの蛋白尿減少効果 加藤佐和子、丸山彰一、槇野博史、和田淳、宇津貴、荒木久澄、古家大祐、金崎啓造、西山成、今井圓裕、安藤昌彦 第57回日本腎臓学会総会(横浜)平成26年7月5日

57. ワークショップ2 ネフローゼ症候群を呈する疾患の最新の診断・治療 レクチンマイクロアレイによる糖尿病性腎症の新規バイオマーカーの同定 和田淳、勅使河原早苗、中司敦子、江口潤 第44回日本腎臓学会西部学術集会(神戸)平成26年10月3日
58. 早期糖尿病性腎症におけるバイオマーカーとしての尿中TFF (Trefol factor)の検討 寺見直人、小川大輔、畑中崇志、山成俊夫、杉山齊、四方賢一、槇野博史、和田淳 日本糖尿病学会中国四国地方会第52回総会(広島)平成26年10月24日
59. メタボリックシンドロームにおける脂肪組織と骨格筋の機能異常を制御する新規因子の探索 天田雅文、江口潤、柴田祐助、布上朋和、片山晶博、勅使河原早苗、村上和敏、中司敦子、和田淳 第35回日本肥満学会(宮

崎)平成26年10月25日

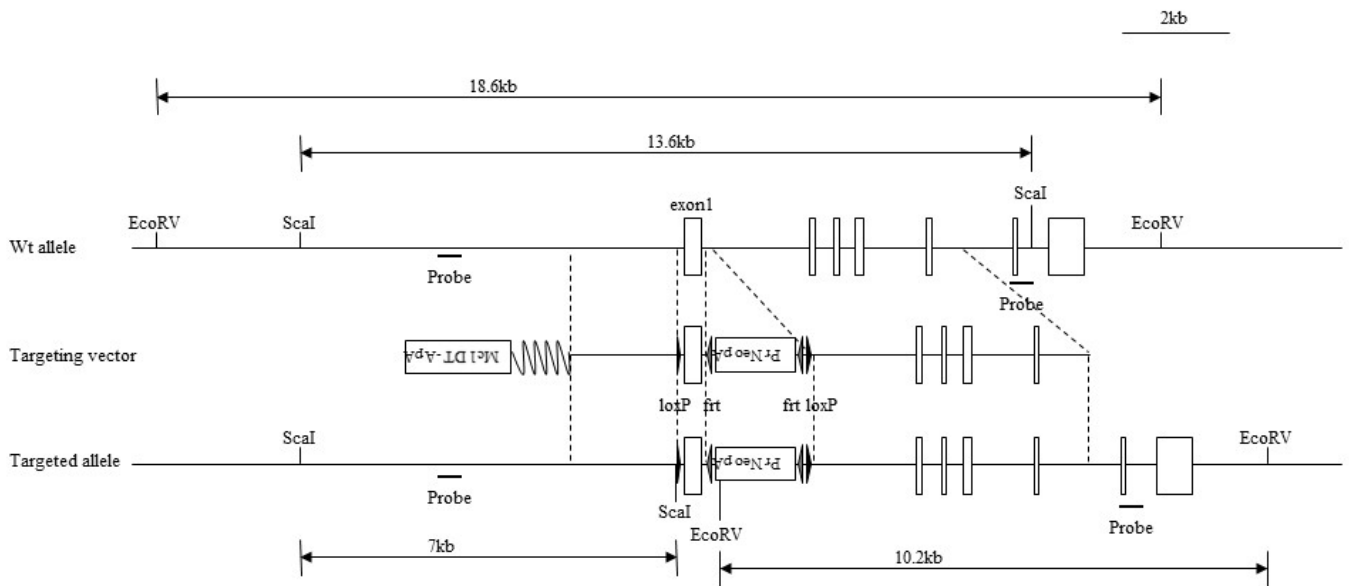
60. メタボリックシンドロームに伴う脂肪肝炎とPemtの意義 中司敦子、村上和敏、勅使河原早苗、片山晶博、布上朋和、天田雅文、山口哲史、江口潤、和田淳 第35回日本肥満学会(宮崎)平成26年10月25日
61. メタボリックシンドロームにおけるGalectin-9の意義 布上朋和、勅使河原早苗、柴田祐助、天田雅文、片山晶博、村上和敏、江口潤、中司敦子、和田淳 第35回日本肥満学会(宮崎)平成26年10月25日
62. 脂肪細胞における接着とアクチン重合を介したACAMの抗肥満作用 村上和敏、江口潤、中司敦子、和田淳 第35回日本肥満学会(宮崎)平成26年10月25日

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

1 Target construct of Ahsg knockout mice.

Ahsg(loxP)



2 Sequece of target construct of Ahsg knockout mice.

5arm

ggtacagagaagtgagggtgtgtggttaagagcgactgctatctctcctcaccaccgctgctgggggagagacagccaaccgctagcttaaatgccactgtttgttactgctatcttggttccacccccatgtaaaatfcattttgatagcatttaaatctctccccaggcagacaggtgtgactgggagatgctcccagtggtggctggctggctggctggcagaccattgctcaggggtcccatgcagatgggtgtgaaagctacctfccaaatccccaatcctcatatggacaaagcagctccatctcccaagttcaagaagggtgtgaagaaaagcctaaaagactctcctggctgggattgggagccccaggggactggaagctgaagggagggctaaagcagagccaaggaagagagcatactgctcaggtfaca gctgtcacgftacctgacagaggattccggagcaggctctfacaacaaaggggaggtgatatacctccacccttgactaatgaggtgctccataaagaatccctttcattt gtggcttgttctaaccctcagtggggacaagctacttagtagggcagggtttcaatcaaggatctgaaattggggtatgtgaaagagagtagattaggtattcgcaaaagaag gtftaagtcagcatttcagctataaaactctctgtggagagtaaaatgcggttcatgtgcctgagctfacaactaaaaagcatccctgctttccaaatccatfaatgtccagatt tagtatttctgaggaaaagcttagctctcaaaagagttcctatgtcatgcccttacattaaatgggtacacggftaatagaaaactaaatgactagctagatgtctctgagcgttatg gccctctccaagagaactgggagttcccattcaggctgtacatgtgcgtgtggctggaagcaaatgcaaaatgagccctgctaccactgtctctgccctgtcaccctcctctc taccacaaccaagtctgctgctacaaagttgggtccatttagattttccatcagaagttcttctctcttttgaacaagtattcccccccccccggaagcaatgttaaaaacc acaggcaaatccatccaaatgtaacggtgacttcgcggtatttgaagtaggtctttgtgtgaaggcttcttgctcccggctctctacatgacatttctgaaacctgtcagtgctctg cacacactcctgaagatcatatctgggactgtcaaaacccacaggcacactaacctctgttgagattgcaaaagagtcagagcagacctttgtcataattgctcttgcagtacc tcaacctgaaatgctggagtcacaaccagaacctgtcaaatgatggctcagaggccagaactccatggtgtgcaactgtgcttggctgggaccagagtgctactgtgtgctg atgtgccacacagaagacacagagcagtgctgctgtctgtccctgcagggcttgggtgaggtttgcaggggtgaggggtgagggaaaagaggaggcaaacagcta caccggtcacacctcctgcatgctataatcattttactgacttgagcatctccatggctcagcggatctttgctacatgtgtggactctctcttctctctagactctcttgaggagat caatcatcaacgftagaagattaccagagcatgctatagccctatcctgctcatatcagggtgcaaaagcatgctcatattcacgtggatgacctcaccaccacccccaccg ccactgcagctgctctgtgctggccatgtccatttaccacctcagccacctctctctctgctgttaccatgttccaggcagactttggaatactttg

agtactcaactttattatacaaaagttgatttaaatgctagc

loxP

ATAACTTCGTATAGCATACATTATACGAAGTTAT

cacatc

Flox arm

cccacagcagcattgactttggcagatctgtgggagagatgatgtcctaaactatttgccttccagagctgctgtttgcaaggattatttgaaccagaacagaaatctccac gcctttacgcaatccttcggcgggtctgtcagatAAATTAGGCCCTCTGCCCTCTATTGGTCTAGCTCTCCAAGCTGATTATCC GGGCTGCTCCTGACATTTGCCATTTCCAGGGCTCTCTGGAGCAACCATGAAGTCCCTGGTCTTGCTCCT TTGTTTTGCTCAGCTCTGGGGCTGCCAATCCGCTCCACAAGGTACAGGACTGGGTTTTAGAGAATTGGCTTG TGATGATCCAGAAGCAGAGCAAGTAGCTTTGTTGGCCGTGACTACCTCAATAATCATCTTCTTCAGGGATT CAAACAGGTCTTGAATCAGATCGACAAAAGTCAAGGTGTGGTCTCGGgtaagtgagcctaccaggaatgagctgaatgaatctggg taggggatctaaccagtgctcaaaaggctagcatctcccag

gtcagagccagcgcccgctagaatcggcctctagaactagaattct

frt

GAAGTTCCTATACTTTCTAGAGAATAGGAACTTC

ggaataggaactcaagcttgattcagggatctatagatcatgagtgagggaatgagctggcccttaatttggtttgctgt

PGK pA

TTAAATTATGATATCCA ACTATGAAACATTATCATAAAGCAATAGTAAAGAGCCTTCAGTAAAGAGCAGGCAT TTATCTAATCCCAACCCACCCCAACCCCGTAGCTCCAATCCTTCCATTCAAATGTAGGTACTCTGTTCTCA CCCTTCTTAACAAAGTATGACAGGAAAACTTCCATTTTAGTGGACATCTTTATTGTTTAATAGATCATCAATT TCTGCAG

acttacagcggatcgtcccc

Neo

TCAGAAGAACTCGTCAAGAAGGCGATAGAAGGCGATGCGCTGCGAATCGGGAGCGGCGATACCGTAAAGC ACGAGGAAGCGGTCAGCCATTCGCCGCCAAGCTCTTCAGCAATATCACGGGTAGCCAACGCTATGTCTTG ATAGCGGTCCGCCACACCAGCCGGCCACAGTCGATGAATCCAGAAAAGCGGCCATTTTCCACCATGATATT CGGCAAGCAGGCATCGCCATGGGTACGACGAGATCCTCGCCGTGGGCATGCGCGCCTTGAGCCTGGCG AACAGTTCGGCTGGCGCGAGCCCTGATGCTCTTCGTCCAGATCATCTGATCGACAAGACCGGCTTCCATC CGAGTACGTGCTCGCTCGATGCGATGTTTCGCTTGGTGGTCAATGGGCAGGTAGCCGGATCAAGCGTATGC AGCCGCCGATTGCATCAGCCATGATGGATACTTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGATGACAGGAGATCCTG CCCCggCACTTCGCCAATAGCAGCCAGTCCCTTCCCGCTTCAGTGACAACGTGAGCAGCAGCTGCGCAAG GAACGCCCGTCTGTGGCCAGCCACGATAGCCCGCTGCCTCGTCTGAGTTCATTAGGGCACCGGACAGG TCGGTCTTGACAAAAGAACCGGGCGCCCTGCGCTGACAGCCGGAACACGGCGGCATCAGAGCAGCCGA TTGTCTGTTGTGCCAGTCATAGCCGAATAGCCTCTCCACCAAGCGGCCGGAGAACCTGCGTGCAATCCAT CTTGTTCAATGGCCGATCCCAT

attgctgca

PGK promoter

GGTCGAAAGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCAGACGTGCGCTTTTGAAGCGTGCAGAA TGCCGGGCTCCGGAGGACCTTCGGGCGCCCGCCCGCCCTGAGCCCGCCCTGAGCCCGCCCGGAC CCACCCCTTCCAGCCTCTGAGCCAGAAAGCGAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCAAGGC

