

13.2.2 同意取得の時期と方法

研究協力者の同意を得るに際し、対象となる研究協力者に対し、研究協力者が研究に参加する前に、研究責任者が作成し、大学倫理委員会で承認を得た説明文書と同意書を用いて試験の目的、方法などについて説明する。また、研究協力者が内容を十分に理解できたか確認した上で本研究への参加について研究協力者の自由意志による同意を文書により取得する。

13.2.3 説明内容

- (1) 研究目的
- (2) 研究協力の任意性と撤回の自由
- (3) 研究方法・協力事項
- (4) 研究協力者にもたらされる利益および不利益
- (5) 個人情報の保護
- (6) 研究計画等の開示
- (7) 協力者への結果の開示
- (8) 研究成果の公表
- (9) 研究から生じる知的財産権の帰属
- (10) 研究終了後の試料取り扱いの方針
- (11) 費用負担に関する事項
- (12) 問い合わせ先
- (13) 健康被害に対する補償について

13.3 個人情報の保護

研究協力者のプライバシーの保護について下記事項を遵守する。

- (1) 研究協力者の特定は識別コードを用いて行う。
- (2) 患者検体、データなどの取り扱いにおいては十分注意し、研究協力者のプライバシーを保護する。

患者検体は測定が終了時点でカルテ番号を消去し破棄する。個人情報管理者は新たに管理 ID を設定し、カルテ番号との連結表を作成し、データなどは全て管理 ID で厳重に管理する。(連結可能匿名化)

また、本研究に関する一切の試料など(検体、データ)は当院内で保管し、国立循環器病研究センターには移動されない。

14. 研究費用

14.1 資金源

本研究の資金は厚生労働省の科学研究費から支給される。

14.2 本研究の治療に関する費用

外来診察費用、通常の薬剤費用、入院費用は他の慢性腎臓病患者と同様に保険診療下で行われ、自費負担分の費用は通常通り患者負担となる。本研究で行われる特殊検査項目や投与ペプチド（グレリン）の費用は患者負担とはならず、厚生労働省の科学研究費から支払われる。

15. 健康被害に対する補償

本研究では臨床研究に関する倫理指針の規定により被験者に生じた健康被害の補償のための保険に加入し、万一被験者に健康被害が生じた場合補償する。

16. 研究結果の公表に関する取り決め

本試験で得られた成績を適切な学会・医学雑誌に公表することができる。
その際には研究協力者の個人情報は一切公表されない。

17. 試験実施計画書の承認および改訂

プロトコルの承認、改訂は本試験の中央委員会および大学倫理委員会の承認を経て研究責任者が改訂する。

18. 研究の終了

全患者がプロトコルを終了した時点で研究の終了とする。ただし、安全モニタリング委員会は重大な有害事象の発生などの理由で研究の早期終了を指示することができる。その際は本試験の中央委員会への連絡を経て研究責任者が実施する。

19. 研究組織

【研究責任者】

慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科 伊藤 裕

【実施責任者】

慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科 脇野 修

【中央委員会】

慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科 伊藤 裕 (委員長)

慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科 脇野 修

慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科 中谷 英章

【個人情報管理者】

慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科・
クリニカルリサーチセンター

丸山 達也

【共同研究者】

国立循環器病研究センター研究所

寒川 賢治

【安全モニタリング委員会】

慶應義塾大学保健管理センター

河辺 博史（委員長）

京都大学大学院医学研究科内分泌・代謝内科

向山 政志

【研究事務局】

慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

東京都新宿区信濃町 35

TEL: 03-3-5363-3796 FAX: 03-3359-2745

責任者：脇野 修

担当者：中谷 英章

20. 引用文献

1. Akamizu T, Takaya K, Irako T, Hosoda H, Teramukai S, Matsuyama A, Tada H, Miura K, Shimizu A, Fukushima M, Yokode M, Tanaka K, Kangawa K : Pharmacokinetics,safety,and endocrine and appetite effects of ghrelin administration in young healthy subjects. *Euro J Endocrinol* 2004; 150: 447-455
2. Damien R. Ashby, Heather E. Ford, Katie J. Wynne, Alison M. Wren, Kevin G. Murphy, Mark Busbridge, Edina A. Brown, David H. Taube, Mohammad A. Ghatei, Frederick W.K. Tam, Stephen R. Bloom, Peter Choi: Sustained appetite improvement in malnourished dialysis patients by daily ghrelin treatment. *Kidney International* 2009; 76: 199-206
2. Miyashita K, Itoh H, Tsujimoto H, Tamura N, Fukunaga Y, Sone M, Yamahara K, Taura D, Inuzuka M, Sonoyama T, Nakao K: Natriuretic peptides/cGMP/cGMP-dependent protein kinase cascades promote muscle mitochondrial biogenesis and prevent obesity. *Diabetes* 2009; 58:2880-2892
3. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K: Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660
4. Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, Hayashi Y, Kangawa K: Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 280: R1483-R1487
5. Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S: Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 904-907
6. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S: A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001;409:194-198
7. Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, Kennedy AR, Roberts GH, Morgan DG, Ghatei MA, Bloom SR: The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 2000; 141: 4325-4328
8. Nagaya N, Itoh T, Murakami S, Oya H, Iwase T, Uematsu M, Yokota S, Maekura R, Yamagishi M, Miyatake K, Kangawa K: Treatment of cachexia with ghrelin in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Chest* 2005; 128: 1187-1193
9. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Suda M, Koh T, Natsui K, Toyooka S, Shirakami G, Usui T, Shimatsu A, Doi K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K: Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4753-4758

III.研究成果の刊行に関する一覧表

藤村 慶子, 脇野 修, 篠塚 圭祐, 徳 山 博文, 林 晃一, 伊藤 裕	消化管ペプチドGhrelinの 腎臓における生理的意 義,	日本腎臓学 会誌	56巻3号	303	2014
脇野 修, 水口 斉, 伊藤 裕	【腎臓学この一年の進 歩】腎とインスリン抵抗 性	日本腎臓学 会誌	56巻1号	804-810	2014
脇野 修, 長谷川一 宏, 藤村慶子, 伊 藤裕	腎臓と老化	細胞	46巻13 号	631-635	2014

IV.研究成果の刊行物・別刷

腎とインスリン抵抗性

Renal insulin resistance syndrome

脇野 修 水口 斉 伊藤 裕

Shu WAKINO, Hitoshi MINAKUCHI, and Hiroshi ITOH

はじめに

腎とインスリン抵抗性(IR)との関連については、基礎、臨床の両面でさまざまな角度から考えるべきである。すなわち、CKDがIRを引き起こし、IRはCKDを引き起こすという双方向性の密接な関連が指摘されているためである。特にIRがCKDの発症進展にかかわる機序としては、腎臓自体のIRと全身のIR、もしくは高インスリン血症が腎臓自体に及ぼす影響とに分けて考えなければならない。後者については、IRを基盤とするメタボリック症候群(Mets)、高血圧、肥満、糖尿病といった生活習慣病との関連である。本稿では、まず腎臓自体のIRの意義について基礎的研究の進歩を述べた後、その臨床的意義について考察するとともに、IRを基盤とする肥満、Metsにおける腎障害について述べたいと思う。

インスリン標的臓器としての腎臓

腎臓ではインスリン受容体が豊富に発現しており、腎臓はインスリン標的臓器である。近年、CKDおよび糖尿病、肥満において腎臓にIRが存在することが明らかとなり、この分野の知見が集積している。ここでは、腎臓のIRの病的意義について近年の報告を中心に説明する(図1)。

1. PodocyteにおけるIR(図2)

Podocyteはインスリン感受性の高い細胞である。Podocyteにおけるインスリンシグナルの減弱が腎臓にどのような影響を及ぼすかについて、podocyte特異的インスリン受容体欠損マウスの結果が報告されている¹⁾。このマウスではpodocyteのapoptosisが亢進し、足突起の癒合、基底膜の

肥厚が認められ、糸球体硬化とアルブミン尿の増加が認められていた。インスリンはpodocyteの構造機能に必須であることが証明された。この発見を契機にpodocyteにおけるインスリンシグナルの意義についての研究が多く報告されている。Haleらは、インスリンがpodocyteにおけるvascular endothelial growth factor(VEGF)の発現を調節していることを証明した²⁾。VEGFは糸球体の透過性や腎臓の毛細血管の構築に重要な役割を果たしており、インスリンによる糸球体機能の調節が示唆される。その一方で、過剰なインスリンが糸球体の透過性を上昇させるという結果も報告されている。過剰なインスリンによりpodocyteにおいてNADPH-oxidaseの発現が上昇し、酸化ストレスが亢進し、podocyteのアルブミンの透過性が亢進することが報告された³⁾。IRにおける高インスリン状態の病的意義を示唆する報告である。

このpodocyteにおけるIRの発症機序に関する報告も認められる。Src homology-2 domain-containing phosphatase-1(SHP-1)は酪氨酸酸化酵素であるが、インスリン受容体と結合し、そのチロシンリン酸化を抑制しIRを引き起こすことが知られている。Drapeauらは、AkitaマウスのpodocyteにおいてSHP-1の発現が亢進していることと、高血糖刺激によりpodocyteのSHP-1の発現が上昇することを示し、糖尿病におけるpodocyteのインスリン抵抗性の原因の一つとしている⁴⁾。糸球体の炎症がpodocyteのIRに関与するという研究も報告されている。nucleotide-binding oligomerization domain-containing 2(NOD2)はinnate immunityの関与するintracellular pattern recognition receptors(PRRs)の一つであり、細菌の細胞壁に存在するmuramyl dipeptide(MDP)を認識し細胞内に免疫応答を惹起させる分子である。NOD2は免疫機序を介する糸球体障害に関与し、その糸球体での発現がeGFRと負の相関が認められることが知

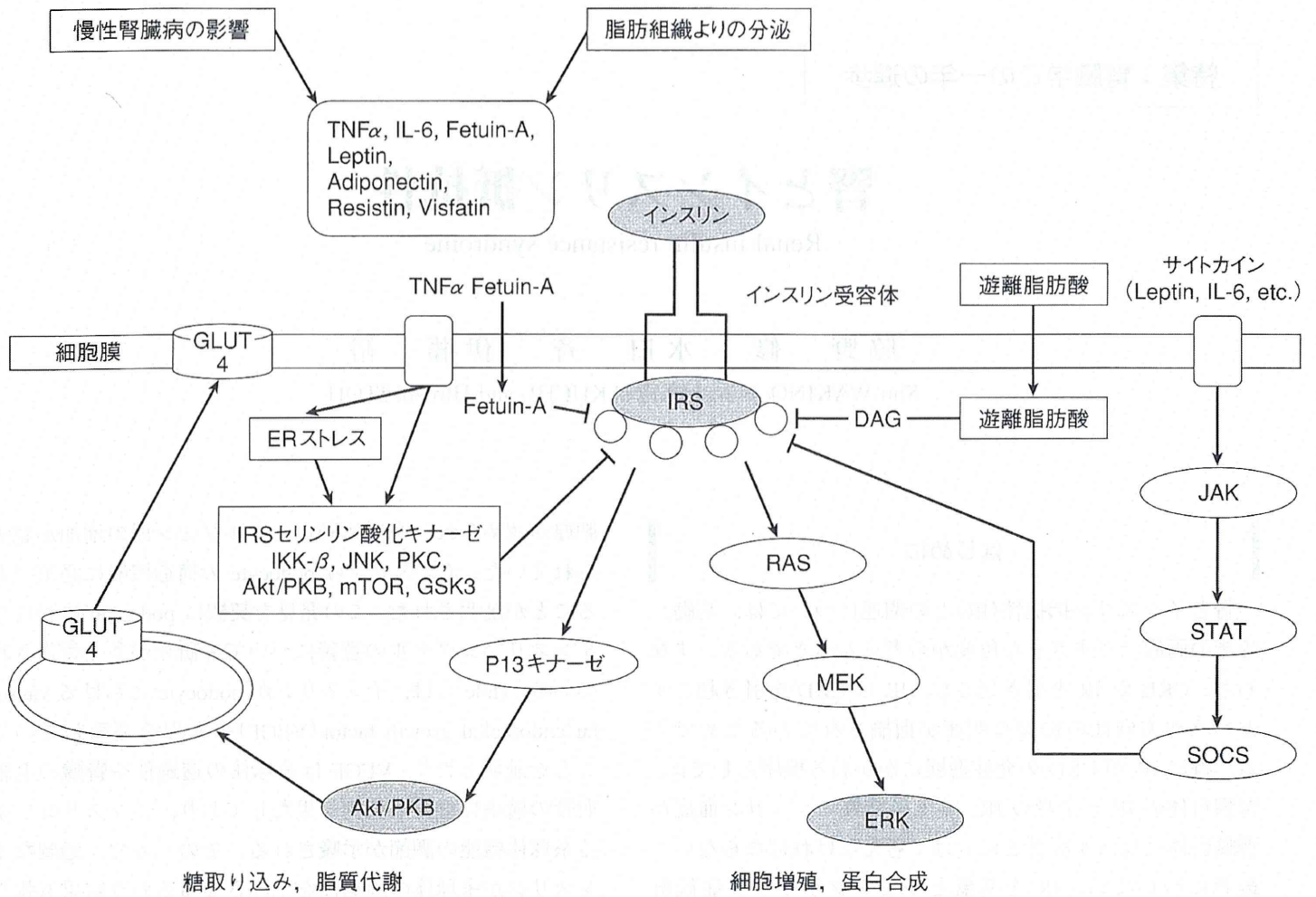


図 1 インスリンシグナルと IR

TNF α : tumor necrosis factor alpha, IL-6 : interleukin-6, IRS : insulin receptor substrate, ERK : extracellular signal-regulated kinase, DAG : diacylglycerol, JAK : Janus kinase, STAT : signal transducers and activator of transcription, SOCS : suppressor of cytokine signaling, IKK- β : inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta, JNK : c-Jun N- terminal kinase, PKC : protein kinase C, mTOR : mammalian target of rapamycin, GSK3 : glycogen synthase kinase 3

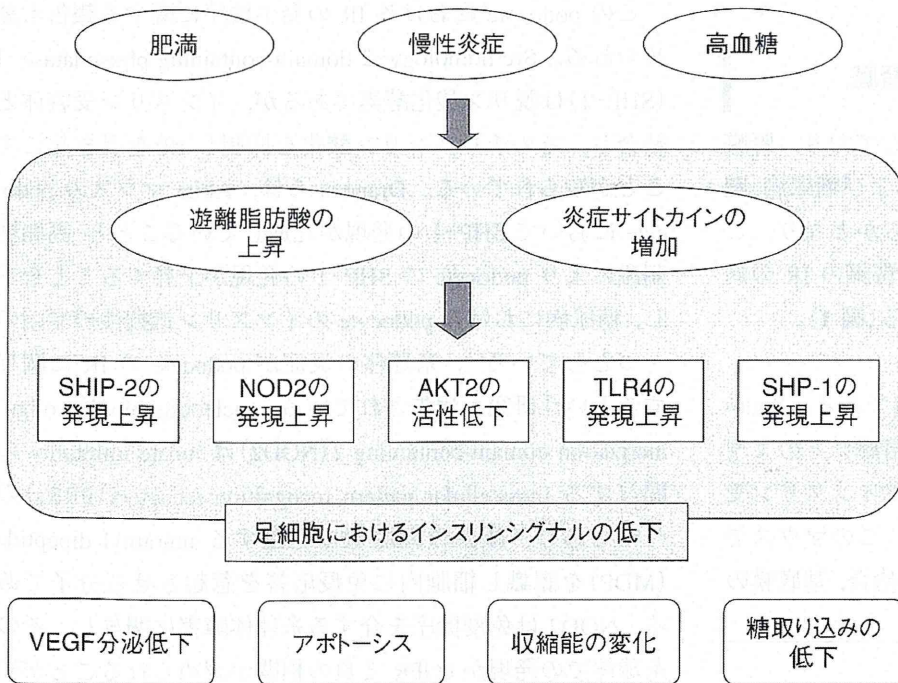


図 2 Podocyte における IR

SHIP-2 : SH2 domain-containing inositol 5'-phosphatase, NOD2 : nucleotide-binding oligomerization domain-containing 2, TLR4 : Toll-like receptor 4, SHP-1 : Src homology-2 domain-containing phosphatase-1

られている。NOD2 の発現が高脂肪食下マウスおよびストレプトゾトシンによる糖尿病モデルマウスの糸球体において亢進していることが明らかとなり、糖尿病性腎症における NOD2 分子の意義が注目されるようになった。Du らは、podocyte において NOD2 を活性化させるとインスリン受容体の下流に位置する IRS-1 のセリン残基のリン酸化が亢進し、正常のシグナル伝達によるチロシン残基のリン酸化を抑制することを明らかにした。さらに、NOD2 欠損マウスでは高脂肪食下マウスおよびストレプトゾトシンによる糖尿病マウスにおける腎障害が抑制されることも明らかにし、その機序として podocyte の IR の改善を指摘している。podocyte 特異的な遺伝子改変のデータがなく十分な証明とは言えないが、炎症と IR との関連を解明した研究であり注目されている⁵⁾。toll-like receptors (TLRs) も PRRs であり、脂肪細胞においては IR を引き起こす分子として知られており、特に TLR2 および TLR4 は高糖刺激および遊離脂肪酸刺激で活性化し、IR を引き起こすことが知られている。TLR2 および TLR4 は podocyte において高い発現が認められる。Cha らは、その特異的拮抗薬である GIT27 が *db/db* マウスの尿蛋白を抑制し、その機序の一つとして podocyte における活性酸素の低下、IR の改善をあげている⁶⁾。

2. Podocyte における Akt2

インスリン受容体の下流に位置する Akt に関しては、2013 年、CKD の進展に関する結果が報告され注目されている。Akt はセリン・スレオニンキナーゼであり、細胞のストレス応答や細胞の生存に関する役割を有している。Akt には Akt1~3 があるが、Canaud らは、Akt1 および Akt2 欠損マウスでは Akt2 欠損マウスのほうが腎臓に伴う尿蛋白の上昇と糸球体硬化が強く出現することを示し、腎臓では Akt2 が重要であることを証明した⁷⁾。彼らはさらに podocyte 特異的な Akt2 欠損マウスを作製し、このマウスにおいて腎臓摘出後には腎臓代償性肥大のメカニズムが欠損していることを示した⁷⁾。さらに、Akt2 欠損マウスでは podocyte の足突起の癒合が認められ、足突起のストレスファイバーの形成に異常が認められた。ヒト腎生検検体での検討も加えられている。移植後の免疫抑制薬として用いられている sirolimus (rapamycin ラパミュン®) は、本邦では抗癌薬や薬剤溶出性ステントで用いられているが、Akt2 のリン酸化酵素である mammalian target of rapamycin complex 2 (mTORC2) および mTORC1 活性を阻害する。sirolimus 投与中の患者の移植腎においては、腎臓の Akt2 のリン酸化が低下し、podocyte のアポトーシスが增加している

ことが明らかとなり、sirolimus の副作用の機序および移植腎組織における Akt2 発現の検索の必要性を示唆する論文であった。

以上のように、podocyte の構造機能の維持にインスリンは必須であり、podocyte における IR、すなわちインスリンシグナルの減弱は Akt2 の活性の低下を引き起こし、尿蛋白発症の一つの可能性として注目を浴びている。しかしながら、糖尿病や肥満で実際に腎臓局所の podocyte で IR が生じているか、Akt2 の活性が低下しているかどうかは不明であり、今後の検討課題である。

3. 尿細管における IR

尿細管のインスリンシグナルについては、近位尿細管特異的 IR 欠損マウスに関するデータが報告された。Tiwari らは、近位尿細管の特異的 IR 欠損マウスにおいては軽度の耐糖能異常が認められることを報告した⁸⁾。このマウスでは、腎臓においては glucose-6-phosphatase の発現が亢進しており、糖新生が亢進していることが明らかとなり、腎での糖新生の亢進がこのマウスの全身での耐糖能の異常に寄与したと考えられた。CKD では近位尿細管のインスリン受容体の発現が低下していることが明らかにされて、近位尿細管における IR が CKD における全身の IR に寄与している可能性が考えられた。集合管におけるインスリン受容体の意義についても報告されている。Pavlov らは、AQP-2 プロモーターを用いた Cre-Lox システムで集合管主細胞特異的なインスリン受容体欠損マウスを作製した⁹⁾。このマウスでは、上皮性 Na チャネル (ENaC) の発現および活性が低下していることを報告した。その結果、欠損マウスでは塩分排泄亢進および血圧低下が認められた。インスリン投与で上昇する ENaC の発現も集合管主細胞特異的なインスリン受容体欠損マウスでは認められなかった。肥満や Mets における高血圧発症の機序として、腎での Na 再吸収の亢進が知られているが、この分子機序としてインスリンによる ENaC の発現調節が考えられる。その一方で、正常状態では急性のインスリン投与により降圧および Na 排泄が亢進することが以前より知られている。その機序については、すでに kidney-specific cadherin (Ksp) プロモーターを用いた Cre-Lox システムを用いた検討が報告されている。この尿細管特異的 IR 欠損マウスでは、ヘンレ上行脚および集合管における塩分再吸収が亢進し、塩分負荷による血圧上昇、体液貯留が増悪する結果が認められた¹⁰⁾。すなわち、ヘンレ上行脚および集合管ではインスリンは塩分排泄に寄与していると考えられている。

このように、尿細管の部位によりインスリンの作用が異