

新規 BMP 拮抗分子に着目した糖尿病における心筋細胞の線維化機構の解明

小林洋輝

日本大学医学部 内科学系 腎臓高血圧内分泌内科学分野

【研究の背景】

申請者は糖尿病性腎症患者を対象にした血漿中蛋白の網羅的測定で、腎保護作用を持つ BMP-7 の antagonist である NBL1 が将来の ESRD を強力に予測するバイオマーカーであることを明らかにした¹⁾。さらに、NBL1 ノックアウト (KO) マウスを用いた実験で血漿中の循環 NBL1 が腎線維化進展の一因となることを見いだした。BMP-7 を介した腎線維化の機序は心筋線維化と共通しており、血漿中 NBL1 の上昇は心筋細胞の障害にも影響を与えている可能性があると考えた。

【目 的】

NBL1 KO マウスを用いた実験で NBL1 が腎線維化の一因になることを見いだした。腎臓と心筋は共通の線維化機構を持つことから、NBL1 が心臓障害の一因にもなっているという仮説を立てた。本研究では NBL1 の心筋細胞における役割を明らかにすることを目的とするために、NBL1 KO マウスについて糖尿病性心筋症モデルを作成し、心臓線維化の程度を評価する。

【方 法】

糖尿病性腎症と糖尿病性心筋症の両疾患モデルを作成するために、NBL1 KO マウス (NBL1:-/-) と野生型 (WT) マウス (+/+) を使用した。8 週齢のマウスをイソフルラン麻酔下で右側腹部を 2cm 程度切開し、腎臓を露出し、腎動脈および輸尿管を結紮後、右腎臓を摘出した。術後、飼料を普通餌から高脂肪餌に変更し、2 週間の回復期間を与えた後に、ストレプトゾシン (STZ, 40mg/kg) を腹腔内に 5 日間連続投与し、14 日後に血糖値が 300mg/dl 以上となった個体を糖尿病発症マウスとした。また STZ を投与せず、普通餌で飼育する KO マウスおよび WT マウスをコントロール群とした。すべての群について、4 週間ごとに体重と血糖値の測定をし、糖尿病発症後 20 週まで飼育した。飼育終了後、マウスはイソフルラン麻酔下で、正中切開を行い、心臓採血による安楽死を実施し、血液サンプルおよび心臓を含む臓器を解析に使用した。血中 NBL1 濃度は ELISA 法で測定した。また、心臓組織から Total RNA を抽出し、NBL1 mRNA および線維化関連遺伝子 (Fibronectin、Collagen IV、CTGF など) の発現はリアルタイム PCR で評価した。

【結 果】

実験期間中の体重および血糖値は、コントロール群と糖尿病群の KO マウスと WT マウスの間で差は認められなかった。コントロール群と比較して、糖尿病群の WT マウスでは血中 NBL1 濃度が有意に上昇していた ($p < 0.05$)。心臓組織では、糖尿病群の WT マウスにおいて、コントロール群と比べて NBL1 mRNA 発現が有意に増加していた ($p < 0.05$)。また、糖尿病群の WT マウスでは、Fibronectin、Collagen IV、CTGF といった線維化関連遺伝子の発現が、KO マウスと比較して有意に増加していた ($p < 0.05$)。現在、心臓組織の線維化関連蛋白の発現や組織染色を用いた解析を進めており、糖尿病性心筋モデルにおける NBL1 の役割をさらに詳細に評価している。

【考 察】

BMP-7 の拮抗分子である NBL1 は、腎臓や心臓を含む多くの臓器の線維化において重要な役割を果たしている可能性がある。本研究では、糖尿病性心筋症モデルを用いた動物実験を通じて、NBL1 が心臓組織における線維化進展に関与していることを示唆する結果が得られた。まず、糖尿病モデルマウスでは、コントロール群と比較して血中 NBL1 濃度が有意に上昇し、さらに心臓組織での NBL1 mRNA 発現も増加していた。このことから、糖尿病状態において NBL1 が全身的および局所的に高発現している可能性が示された。次に、線維化に関与する遺伝子 (CTGF, Fibronectin, Collagen IV) の発現は、糖尿病群の WT マウスにおいて有意に増加しており、対照的に KO マウスではその発現が抑制されていた。これらの結果は、NBL1 が糖尿病性心筋症における線維化進展を促進する因子であることを示唆している。さらに、NBL1 の機能的役割を考えると、EMT(上皮間葉転換)がその作用の中心にある可能性が高い。EMT は細胞が上皮の性質を失い、間葉的性質を獲得する過程であり、組織線維化において重要な役割を果たす。今回の結果から、NBL1 が EMT を促進し、腎臓のみならず心臓組織の線維化にも寄与することが示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

これらの知見は、NBL1 が糖尿病関連疾患の病態進展において中心的な役割を果たしている可能性を支持しており、NBL1 の発現制御が新たな治療ターゲットとなる可能性を示している。

【参考・引用文献】

1. **Kobayashi H**, Looker CH, Satake E, D'Addio F, Saulnier PJ, Md Dom ZI, O'Neil K, Ihara K, Krolewski B, Badger HS, Wilson JM, Mauer M, Wilson P, Niewczas MA, Doria A, Humphreys B, Duffin KL, Fiorina P, Nelson RG, Krolewski AS. Neuroblastoma suppressor of tumorigenicity 1 is a circulating protein associated with progression to end-stage kidney disease in diabetes. *Science Translational Medicine*, 14(657): eabj2109, 2022.