

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成30年9月4日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08435

研究課題名(和文)慢性腎臓病の先制医療に応用可能なオミックス解析～網羅的リン酸化解析を中心に～

研究課題名(英文)Omics analysis applicable to preemptive medicine of chronic kidney disease  
-focusing on comprehensive analysis of phosphorylated proteins-

研究代表者

長尾 静子(Nagao, Shizuko)

藤田保健衛生大学・研究支援推進センター疾患モデル教育研究施設・教授

研究者番号：20183527

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病の進展因子を明らかにするために、疾患モデル動物の腎臓をオミックス手法により解析する。多発性嚢胞腎モデルであるPCKラットをオミックス解析したところ、TCA回路、尿素回路、分岐鎖アミノ酸代謝および核酸などの代謝物質が高値を示した。一方、脂質や糖代謝関連の代謝物質の変化も顕著であった。ネフロン劣モデルであるpcyマウスでは、核酸代謝、TCA回路、尿素回路、芳香族アミノ酸および脂質代謝に変化が認められた。網羅的リン酸化解析によって、PCKラットでは17個、pcyマウスでは35個の蛋白質のリン酸化が有意に変化していた。これらの結果をヒトの先制医療に寄与する研究成果に発展させる予定である。

研究成果の概要(英文)：In order to clarify deteriorated factors of chronic kidney disease (CKD), kidneys of CKD animal model were analyzed by an omics approach. PCK rat is an animal model by orthogons Pkhd1 gene for human polycystic kidney disease. In PCK cystic kidney, the metabolites levels increased in TCA cycle, urea cycle, branched chain amino acid metabolism and nucleic acid metabolism, the metabolites levels also changed in lipid and sugar related metabolism. Pcy mouse is an animal model by orthogons Nphp3 gene for human nephronophthisis. The metabolites levels of nucleic acid, TCA cycle, urea cycle, aromatic amino acid and lipid metabolism changed in pcy cystic kidneys. 17 proteins in PCK rats and 35 proteins in pcy mice significantly changed by a comprehensive analysis of phosphorylated proteins. These results will be developed into researches contributing to human preemptive medicine of chronic kidney disease.

研究分野：実験病理学 腎臓内科 実験動物科学

キーワード：慢性腎臓病 メタボロミクス プロテオミクス リン酸化 多発性嚢胞腎

#### 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病(CKD)は莫大な費用を要する人工透析に陥ることから、発症年齢と進行速度を遅延させることが重要である。CKDの発症年齢や進行速度を左右する悪化因子を明らかにすることによって、医療費の削減に寄与できる。

#### 2. 研究の目的

腎臓の遺伝性疾患で最も発症率が高い多発性嚢胞腎症のモデル動物および幼児期発症するネフロン労のモデル動物において原疾患(多発性嚢胞腎症およびネフロン労)からCKDに至る因子を網羅的リン酸化解析を中心にオミックス解析し、ヒトの先制医療に寄与することを目的とする。

#### 3. 研究の方法

同一週齢であるが病態進行が異なる多発性嚢胞腎症モデルラットおよびネフロン労モデルマウスの腎臓において、メタボロミクス解析、プロテオミクス解析およびリン酸化プロテオミクス解析を行った。

#### 4. 研究成果

研究成果は多く得られたが、特に、多発性嚢胞腎症モデルラットでは、グルコース代謝に変化が認められ、解糖およびTCAサイクルの活性増加が多発性嚢胞腎症の進行を促進する上で重要な役割を果たす可能性が示唆された。また、病態の進行に依存し、腎臓組織の代謝産物あるいは蛋白質の量に変化が認められたため、今後これらに注目し結果を引き続き、雑誌論文および国内外学会報告する予定である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計8件)

1. Mitochondrial Abnormality Facilitates Cyst Formation in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Yu Ishimoto, Reiko Inagi, Daisuke Yoshihara, Masanori Kugita, Shizuko Nagao, Akira Shimizu, Norihiko Takeda, Masaki Wake, Kenjiro Honda, Jing Zhou, Masaomi Nangaku. Molecular and Cellular Biology December 2017 vol. 37 no. 24 e00337-17. 査読有
2. Distinct oxylipin alterations in diverse models of cystic kidney diseases. Md Monirujamana, Jessay G. Devassy, Tamio Yamaguchi, Nikhil Sidhu, Masanori Kugita,

Melissa Gabbs, Shizuko Nagao, Jing Zhou, Amir Ravandi, Harold M. Aukema. Biochim Biophys Acta. -Molecular and Cell Biology of Lipids- 2017 Dec;1862(12):1562-1574. 査読有

3. Beneficial effect of combined treatment with octreotide and pasireotide in PCK rats, an orthologous model of human autosomal recessive polycystic kidney disease. Masanori Kugita, Kazuhiro Nishii, Tamio Yamaguchi, Atsushi Suzuki, Yukio Yuzawa, Shigeo Horie, Eiji Higashihara, Shizuko Nagao. PLoS One. 2017 May 18;12(5): e0177934. 査読有
4. Aberrant Smad3 phosphoisoforms in cyst-lining epithelial cells in the cpk mouse, a model of autosomal recessive polycystic kidney disease. Taketsugu Hama, Masashi Sato, Hironobu Mukaiyama, Hiroko Togawa, Yuko Shima, Masayasu Miyajima, Kandai Nozu, Shizuko Nagao, Hisahide Takahashi, Mayumi Sako, Kazumoto Iijima, Norishige Yoshikawa, Hiroyuki Suzuki. American Journal of Physiology - Renal Physiology 2017 Dec 1;313(6):F1223-F1231. 査読有
5. Reverse genetics system demonstrates that rotavirus non-structural protein NSP6 is not essential for viral replication in cell culture Satoshi Komoto, Yuta Kanai, Saori Fukuda, Masanori Kugita, Takahiro Kawagishi, Naoto Ito, Nakoto Sugiyama, Yoshiharu Matsuura, Takeshi Kobayashi, Koki Taniguchi, J Virol. 2017 Oct 13;91(21) 査読有
6. Dietary flax oil rich in  $\alpha$ -linolenic acid reduces renal disease and oxylipin abnormalities, including formation of docosahexaenoic acid derived oxylipins in the CD1-*pcy/pcy* mouse model of nephronophthisis. Tamio Yamaguchi, Jessay

- G. Devassy, Melissa Gabbs, Amir Ravandi, **Shizuko Nagao**, Harold M. Aukema Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2015 Mar;94:83-9 査読有
7. Cyclooxygenase product inhibition with acetylsalicylic acid slows disease progression in the Han:SPRD-Cy rat model of polycystic kidney disease, Naser H.M. Ibrahim, Melanie Gregoire, Jessay G. Devassy, Yinhong Wu, Daisuke Yoshihara, Tamio Yamaguchi, **Shizuko Nagao**, Harold M. Aukema. Prostaglandins & Other Lipid Mediators, Volumes 116-117, January-March 2015, Pages 19-25 査読有
  8. **長尾静子**, **釘田雅則**, 吉原大輔, 佐々木麻衣, 山口太美雄. 多発性嚢胞腎ADPKDの新しい展開 嚢胞性腎疾患モデル動物腎臓内科・泌尿器科 1巻2号 p180-193 科学評論社 2015 査読無
- [学会発表] (計22件)
1. **Masanori Kugita**, Tamio Yamaguchi, Yoichi Nagamura, Harold M Aukema, **Shizuko Nagao**. Increased salt intakes dose not deteriorate renal cystic disease progression in high water loaded PCK rats. Kidney Week 2016, Chicago, IL, U.S.A., 2016 Nov 15-20
  2. Tamio Yamaguchi, Nikhil Sidhu, Jessay Gopuran Devassy, Melissa Gabbs, Amir Ravandi, **Masanori Kugita**, **Shizuko Nagao**, Harold M. Aukema. Bioactive Lipid Alterations in the jck and pcy mouse models of nephronophthisis. Kidney Week 2016, Chicago, IL, U.S.A., 2016 Nov 15-20
  3. Masashi Sato, Koichi Nakanishi, Taketsugu Hama, Hironobu Mukaiyama, Hiroko Togawa, Yuko Shima, Masayasu Miyajima, Kandai Nozu, **Shizuko Nagao**, Hisahide Takahashi, Kazumoto Iijima, Norishige Yoshikawa and Hiroyuki Suzuki. Differential expressions of miR-378a-3p/ADAMTS1 in cpk mice, a model of ARPKD Kidney Week 2016, Chicago, IL, U.S.A., 2016 Nov 15-20
  4. Yu Ishimoto, Masaomi Nangaku, **Masanori Kugita**, **Shizuko Nagao**, Akira Shimizu, Jing Zhou, Reiko Inagi. Mitochondrial dysfunction contributes to cysts proliferation of autosomal dominant polycystic kidney disease. Kidney Week 2016, Chicago, IL, U.S.A., 2016 Nov 15-20
  5. Yu Ishimoto, Masaomi Nangaku, **Shizuko Nagao**, Daisuke Yoshihara, **Masanori Kugita**, Yoko Yoshida, Jing Zhou, Mike Murphy, Akira Shimizu, Reiko Inagi. Mitochondrial dysfunction contributes to cyst proliferation of autosomal dominant polycystic kidney disease. The Asian Pacific Society of Nephrology, Perth, WA, Australia, 2016 Sept 17-21 (**Young Investigator Award**)
  6. 組織再生促進デバイス:細胞と天然高分子子粉体との混合物による成長因子産生能の検討 堀秀生、新里昌功、新美元、**長尾静子**、比企能之、北口暢哉 第54回日本人工臓器学会大会、米子、2016年11月23日～25日 米子コンベンションセンター(BIG SHIP)
  7. アルツハイマー病治療に向けて-血液からのA 除去による認知機能改善効果- 川口和紀、坂田美和、酒井一由、比企能之、加藤政雄、**長尾静子**、間宮隆吉、鍋島俊隆、北口暢哉 第35回日本認知症学会学術集会、東京、2016年12月1日～3日 東京国際フォーラム
  8. 血中アミロイド 蛋白(A )除去によるアルツハイマー病治療システム;ラット血中A 除去による血液・髄液中A の変化 川口和紀、木野村淳、平林晃知、渡辺康太、青木洋樹、榊原由莉、坂田美和、**釘田雅則**、加藤政雄、**長尾静子**、北口暢哉 第6回日

- 本認知症予防学会学術集会、仙台、2016年9月23日～25日 東北大学百周年記念会館川内萩ホール
9. ミトコンドリア機能異常は多発性嚢胞腎の嚢胞形成に關与する 石本遊、南学正臣、吉原大輔、釘田雅則、長尾静子 第59回日本腎臓学会学術総会、横浜、2016年6月17日～19日 パシフィコ横浜
  10. 多発性嚢胞腎症モデル動物の腎臓におけるRXRの発現と局在 吉原大輔、釘田雅則、長尾静子 第59回日本腎臓学会学術総会、横浜、2016年6月17日～19日 パシフィコ横浜
  11. 多発性嚢胞腎症モデル動物の腎臓におけるレチノイドX受容体の解析 釘田雅則、吉原大輔、加藤由布、小木曾昇、下村恭代、西田修、長尾静子 第63回日本実験動物学会総会、川崎、2016年5月18日～20日 ミューザ川崎シンフォニーホール
  12. 水と塩の同時過剰摂取が多発性嚢胞腎症モデル動物に与える影響 釘田雅則、小笠原佑衣、畔柳結衣、青山桃佳、長尾静子 第48回藤田医学会総会、豊明、2016年10月6日～7日
  13. 腎臓由来スフィンゴ糖脂質の網羅的解析ワークフローの構築 中嶋和紀、高橋和男、伊藤辰将、加藤彰浩、今西進、山口央輝、長尾静子、原田健一、湯澤由紀夫 広島県広島市 第29回腎と脂質研究会 2017年3月18日 ホテルグランヴィア広島
  14. Yoshihara D, Kugita M, Sasaki M, Nagao S. Expression and distribution of retinoid X receptor in rodent models of polycystic kidney disease. 11th ASPR Congress & the 118th Annual Meeting of the Japan Pediatric Society, Osaka, 2015 Apr 15-18
  15. Yoshihara D, Kugita M, Sasaki M, Nishii K, Suzuki A, Higashihara E, Horie S, Yamaguchi T, Nagao S. Beneficial effect of combined treatment of two somatostatin analogs in an orthologous model of human autosomal recessive polycystic kidney disease. 11th ASPR Congress & the 118th Annual Meeting of the Japan Pediatric Society, Osaka, 2015 Apr 15-18
  16. Yoshihara D, Kugita M, Aukema HM, Yamaguchi T, Nagao S. Retinoid X receptor pathway, a novel signaling cascade responsible for cystogenesis in three rodent models of polycystic kidney disease. American Society of Nephrology Kidney Week 2015, San Diego, CA, U.S.A. 2015 Nov 3-8
  17. 吉原大輔、釘田雅則、長尾静子 多発性嚢胞腎症におけるGi作動薬の併用治療効果 第47回藤田医学会総会 豊明 (2015年10月1日～2日)
  18. 釘田雅則、吉原大輔、西井一宏、鈴木敦詞、湯澤由紀夫、山口太美雄、堀江重郎、東原英二、長尾静子 多発性嚢胞腎症のモデル動物であるPCKラットにおけるGi作動薬の病態進行抑制効果 第62回日本実験動物学会総会 京都 (2015年5月28日～30日)
  19. 釘田雅則、吉原大輔、田代遥、加藤雅也、長尾静子 嚢胞性腎疾患モデル動物における有用性の比較 第87回東海実験動物研究会 岐阜 (2015年12月12日)
  20. 吉原大輔、釘田雅則、西井一宏、鈴木敦詞、湯澤由紀夫、東原英二、堀江重郎、山口太美雄、長尾静子 多発性嚢胞腎ラットPCKにおけるGi作動薬の併用治療効果の検証 第23回嚢胞性腎疾患研究会 川崎 (2015年9月5日)
  21. 釘田雅則、吉原大輔、長尾静子 核内受容体を介した情報伝達経路の解析 第1回シリーズ・ニーズ発表交流会 豊明 (2015年7月23日)
  22. 吉原大輔、釘田雅則、西井一宏、鈴木敦詞、湯澤由紀夫、東原英二、堀江重郎、山口太

美雄、長尾静子 常染色体劣性多発性囊胞腎症モデル動物であるPCKラットにおけるGi作動薬の併用治療効果 第58回日本腎臓学会学術総会 名古屋 (2015年6月5日~7日)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.fujita-hu.ac.jp/CAMHD/LAS/TOPICS.html>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

藤田保健衛生大学・研究支援推進センター・疾患モデル教育研究センター・教授  
長尾静子 Shizuko NAGAO : 20183527

### (2)研究分担者

藤田保健衛生大学・研究支援推進センター・疾患モデル教育研究センター・講師  
釘田雅則 Masanori Kugita : 50440681

### (3)連携研究者

藤田保健衛生大学・医学部・腎内科学・教授  
湯澤由紀夫 Yukio Yuzawa : 00191479

藤田保健衛生大学・医学部・内分泌代謝内科学・教授  
鈴木敦詞 Atsushi Suzuki : 90340265

藤田保健衛生大学・医療科学部・教授  
齋藤邦明 Kuniaki Saito : 8262765

藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・分子遺伝学・教授  
倉橋浩樹 Hiroki Kurahashi : 30243215