

平成 30 年 5 月 10 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09240

研究課題名(和文)腎疾患におけるmicroRNAの発現調節機序とバイオマーカーとしての有用性の検討

研究課題名(英文) Mechanism of microRNA expression regulation and utility of microRNA as a biomarker in renal disease

研究代表者

今田 恒夫 (Konta, Tsuneo)

山形大学・医学部・教授

研究者番号：60333952

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：健診受診者コホートを対象とした研究では、腎関連指標(腎機能低下、高尿酸血症、尿中アルブミンの漏出)が、生命予後、心血管予後の独立した危険因子であることを明らかにした。ヒト腎疾患症例を対象とした研究では、糸球体、尿細管、間質の各細胞に多数のmicroRNAが発現しており、その発現プロファイルが腎疾患ごとに異なること、IgA腎症では特定の尿中microRNA発現量が1年後の腎機能低下と相関することを明らかにした。これらのことから、腎障害や尿バイオマーカーが、生命予後・心血管予後の指標として有用であることが、一般住民・腎疾患患者においても確認された。

研究成果の概要(英文)：In a cohort study, it was revealed that renal dysfunction, hyperuricemia and leakage of albumin in urine are independent risk factors for all-cause and cardiovascular mortalities in the participants of general health check in Japan. In a study of patients with renal diseases, a variety of microRNAs are expressed in the glomerular, renal tubular, and interstitial cells, and their expression profiles vary depending on the types of renal diseases. In longitudinal study of IgA nephropathy, the expression levels of specific types of microRNAs in urine sample correlate with the one-year decline of renal function. Based on these findings, it was shown that renal disorder and urine biomarkers are useful as indicators of all-cause and cardiovascular mortalities in general population, and renal prognosis in the patients with renal diseases.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：microRNA urine

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病の増加や人口の高齢化により増加を続ける慢性腎臓病は、末期腎不全や心血管疾患の危険因子であることから、その発症機序の解明と有効な治療の確立が求められている。近年、18~25塩基からなる内因性 non-coding RNA である microRNA が、炎症・免疫・代謝など様々な生体反応に関与することが明らかになった。腎疾患においても、microRNA が重要な役割を担っていると考えられるが、腎と尿中の microRNA について同時に評価し、腎病変形成と予後の関連について検討した報告はない。また、コホートなど多数例で、microRNA を解析した報告はなく、腎・心血管疾患新規バイオマーカーとしての有用性については十分に検討されていない。

2. 研究の目的

疾患患者、動物モデル、地域住民において、尿 microRNA の腎疾患病態別の発現パターン、遺伝素因・環境因子や治療介入による影響、予後との関連を明らかにし、尿 microRNA が腎疾患新規バイオマーカーとして臨床応用できるか検討する。

3. 研究の方法

(1) ヒト腎生検症例・腎障害動物モデルを用いて、腎組織病変・腎障害指標と腎組織・尿 microRNA の関連を網羅的に解析し、腎病変の指標となる microRNA を同定する。
 (2) ヒト腎生検症例・進行性腎障害動物モデルにおいて、(1)で同定された腎組織・尿 microRNA の病変進行や治療介入による変化を経時的に評価する。
 (3) 地域住民、腎疾患患者を対象としたコホートの追跡調査を行い、遺伝素因・環境因子と microRNA の関連、腎不全や心血管疾患発症のリスク評価に尿 microRNA が有効か検証する。
 これらの解析結果を統合し、腎組織・尿 microRNA の発現調節機序と疾患バイオマーカーとしての有用性を検討する。

4. 研究成果

(1) 腎障害・尿バイオマーカーと予後の関連:

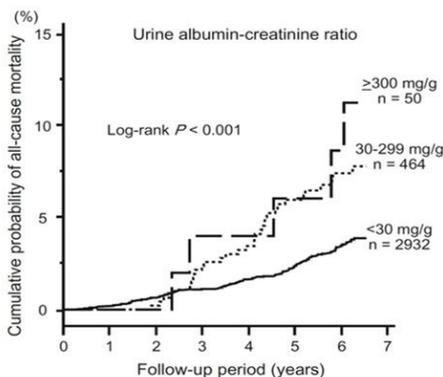


図1 尿アルブミン濃度と7年間総死亡率

コホートを対象とした研究では、地域住民約3000名の尿検体の解析から、尿中蛋白、特にアルブミンの漏出が高度であるほど、生命予後(図1)、心血管予後(図2)は不良であり、背景因子で補正しても、独立した危険因子であることを明らかにした(発表論文1: Sato H, et al.)

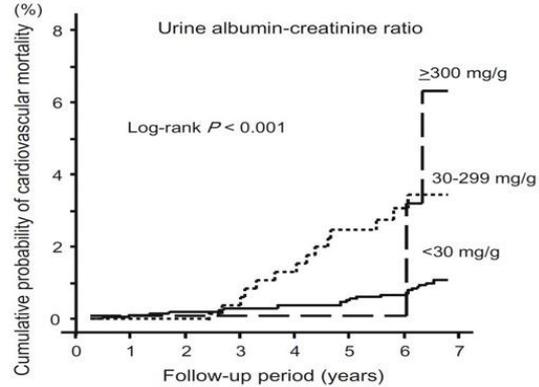


図2 尿アルブミン濃度と7年間心血管死亡率

また、健診を受診した地域住民コホートにおいて、腎機能が低下するほど、7年間の観察期間の生命予後、心血管予後は不良であり(図3)背景因子で補正しても、独立した危険因子であることを明らかにした(発表論文2: Kabasawa A, et al.)

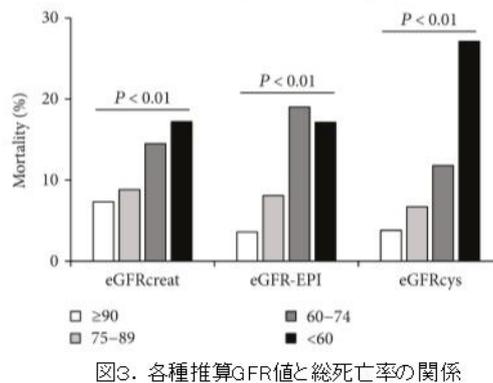


図3. 各種推算GFR値と総死亡率の関係

さらに、血管障害の原因となる高尿酸血症は、女性において総死亡・心血管死亡と関連し、背景因子で補正後も、独立した危険因子となることも報告した(図4)(発表論文3: Kamei K, et al.)

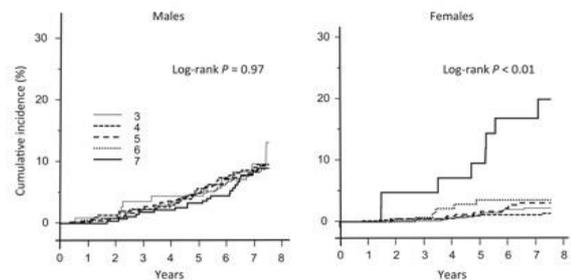


図4. 血中尿酸値と7年間総死亡率(左:男性、右:女性)

これらのことから、腎障害や尿バイオマーカーが、生命予後・心血管予後の指標として

有用であることを、一般住民においても確認した。

(2)ヒト腎疾患症例における尿中総 microRNA 量と腎病変の関連：尿中総 microRNA 濃度と尿蛋白・腎生検組織変化との相関について、様々な腎疾患をもつ 150 症例の腎生検症例の尿から microRNA を抽出し、ほぼ全例で尿中 microRNA が検出可能であった。尿中 microRNA 濃度は尿蛋白と正相関したが、腎組織変化（糸球体内増殖性変化、硬化病変、間質線維化）との相関は有意ではなかった。

(3)IgA 腎症 88 例における尿中 microRNA と腎病変・機能低下の関連：1 年間の腎機能（推定 GFR）変化と尿中総 microRNA 量の関連を検討したところ、尿中総 microRNA 濃度は 1 年間の eGFR 変化との関連は有意ではなかったが、特定の microRNA、尿中 miR-21 濃度が尿蛋白、尿中 2-ミクログロブリン、尿中 NAG 濃度と有意な正相関を認め、1 年後の腎機能低下と相関した（図 5）。また、尿中 miR-192 と miR-200c 濃度は、糸球体増殖性変化と有意な負の相関を認めた（図 6）。（2017 欧州腎臓学会発表、投稿準備中）

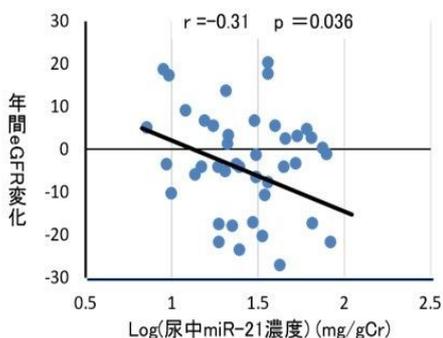


図5. 尿中microRNA濃度と1年間eGFR変化

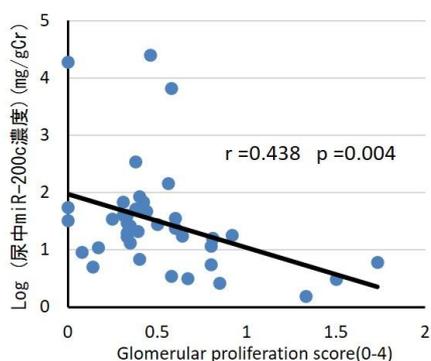


図6. 尿中microRNA濃度と糸球体増殖性病変

(4)個々の microRNA の腎臓内局在と腎病変、腎予後との関連：予備的検討で腎組織変化と尿中濃度が相関を認めた各 microRNA (miR-133b, miR192, miR-200c, miR-30c, miR-21)について、In situ hybridization 法を用いて、腎臓内の局在を検討したところ、各 microRNA は尿細管上皮細胞での発現が強く、糸球体内細胞、血管壁、間質細胞での発

現は軽度であった。

なお、予定していた動物モデルによる検討は、腎予後に関連する個々の microRNA がまだ特定されていないため、今期間中は行わなかった。

これらの結果から、microRNA は腎疾患の発症に関与し、尿中の microRNA は腎組織 microRNA 発現や腎障害の病態を反映している可能性が示唆されたが、腎疾患の診断や病態の解明に尿 microRNA を使用するには、解析症例集を増やし、各病期や重症度に分けた、より詳細な検討が必要と思われた。また、腎疾患のバイオマーカーが心疾患や生命予後の新規指標となる可能性も示唆されたが、臨床応用に向けて、さらに動物実験などでの基礎的検討による裏付けや対象疾患を広げた長期的な追跡調査が必要と考えられた。

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 3 件)

Kabasawa A, Konta T, Suzuki N, Kamei K, Watanabe S, Araumi A, Matsuki E, Kon S, Oyama M, Ichikawa K, Ishizawa K, Ueno Y, Yamashita H, Kayama T, Kubota I. The Association between Glomerular Filtration Rate Estimated Using Different Equations and Mortality in the Japanese Community-Based Population: The Yamagata (Takahata) Study. *Dis Marker*. 査読あり, Volume 2018, Article ID 9191832, doi.org/10.1155/2018/9191832

Kamei K, Konta T, Ichikawa K, Sato H, Suzuki N, Kabasawa A, Suzuki K, Hirayama A, Shibata Y, Watanabe T, Kato T, Ueno Y, Kayama T, Kubota I. Serum uric acid levels and mortality in the Japanese population: the Yamagata (Takahata) study. *Clin Exp Nephrol*. 査読あり, 2016;20(6):904-909. PMID:26779905

Sato H, Konta T, Ichikawa K, Suzuki N, Kabasawa A, Suzuki K, Hirayama A, Shibata Y, Watanabe T, Kato T, Ueno Y, Kayama T, Kubota I. Comparison of the predictive ability of albuminuria and dipstick proteinuria for mortality in the Japanese population: the Yamagata (Takahata) study. *Clin Exp Nephrol*. 査読あり, 2016;20(4):611-617. doi:10.1007/s10157-015-1193-0.

〔学会発表〕(計 1 件)

Soichiro Kon, Keita Kamei, Kazunobu Ichikawa, Tsuneo Konta, Isao Kubota. The Association between Renal Parameters and Urinary MicroRNAs in Patients with IgA

Nephropathy. 54th ERA-EDTA meeting. Madrid, Spain, 2017.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

山形大学医学部公衆衛生学講座

<http://www.id.yamagata-u.ac.jp/PublicHealth/PH-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今田 恒夫 (KONTA, Tsuneo)

山形大学大学院医学系研究科

公衆衛生学・衛生学講座・教授

研究者番号：60333952

(3) 連携研究者

亀井 啓太 (KAMEI, Keita)

山形大学内科学第一講座

研究者番号：60756526