

令和 2 年 9 月 16 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09703

研究課題名(和文) 新規長鎖ノンコーディングRNAに着目したCKD治療法開発のための基盤研究

研究課題名(英文) Fundamental research for developing CKD therapy focusing on novel long non-coding RNA

研究代表者

森永 潤 (Morinaga, Jun)

熊本大学・病院・病院教員

研究者番号：50459210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は本申請研究で慢性腎臓病の病態進展におけるlncRNA-Xの分子機構を解明するための研究を行った。慢性腎臓病モデルの腎臓では通常飼育に比して、組織学的および分子生物学的病態進展に伴うlnc-RNA-Xの発現低下が認められた。また、lnc-RNA-X KOマウスでは野生型マウスに比べ、腎病態が悪化する傾向にあり、同分子過剰発現マウスでは腎病態が緩和される傾向にあった。しかしながら、その傾向の強さは腎臓病モデルによって異なっていた。今後は、慢性腎臓病におけるlnc-RNA-X発現の役割より明らかにするためにさらなる検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は慢性腎臓病進展においてある長鎖ノンコーディングRNAに着目した研究であるが、本研究の成果は、将来における新たな腎不全治療薬の開発のための重要な手がかりとなる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In order to clarify the role of lnc-RNA-X in the progression of CKD, Jun Morinaga performed animal studies and demonstrated that lnc-RNA-X have favorable effects on some CKD progression. However, further studies are needed to clarify the role of lnc-RNA-X in the progression of CKD.

研究分野：慢性腎臓病

キーワード：長鎖ノンコーディングRNA 慢性腎臓病

## 1. 背景

現代における医学・医療技術の目覚ましい進歩にも拘わらず、心血管疾患や透析合併症リスクは未だ高く、慢性腎臓病(CKD)患者の予後は不良である。近年、糖尿病、がん、動脈硬化などの疾患の発症には、タンパク質をコードする遺伝子の変異だけでなく、ゲノムの大半を占めるノンコーディング領域に存在する遺伝子の関与が示唆され、未解明のゲノム機能として注目を集めている。

特に、このノンコーディング領域から長鎖のRNAが非常に多く転写されていることが判明し、これらは、「長鎖ノンコーディングRNA(lncRNA)」と呼ばれている。lncRNAは、哺乳類の高次生命現象や病態発症に深く関わっていることが示唆されているが、近年、lncRNAが多種にわたるヒト疾患病態に深く関わるとする報告がなされ、病態解明及び創薬の面からもこの分子機構に注目が集まっている。このような背景の中、最近申請者らは、器官形成及び疾患に関連する新規遺伝子の単離・同定を目的に遺伝子トラップ法を用いスクリーニングを行い、トラップされたクローンの中から「腎尿細管」に強く発現する新規lncRNA(以下、lncRNA-X)を同定した。

## 2. 研究の目的

本申請研究では腎線維化及びCKD病態におけるlncRNA-Xの分子機構を解明し、lncRNA-Xを標的とした新規CKD治療法開発に向けた基盤研究を行う。

## 3. 研究の方法

遺伝子トラップ法によるES細胞へのトラップベクター挿入により、ある1つの領域がランダムに破壊された結果、lncRNA-Xの転写が欠失する(lncRNA-X knock out、以下KO)と同時に、LacZ導入によるトラップ挿入部位の可視化が可能なレポーターマウスが作成された。また、CAGプロモーター制御下で全身性にlncRNA-Xが過剰発現するマウスも並行して作成した。本研究ではこれらのマウスを用い、lncRNA-Xが慢性腎臓病の病態でどのような役割をもつのかを、片側尿管結紮モデルおよびアデニン腎症モデルを用いて検討を行った。

片側尿管結紮モデルは、8週齢のC57BL/6雄を腹腔麻酔下で腹部を正中切開した後、マウス右尿管を絹糸で二重結紮し、結紮部位の間で尿管を切断、閉腹した。術後10日目にサクリファイスを行い、腎臓サンプルを回収した。

アデニン腎症モデルは、8週齢の雄C57BL/6を0.3%アデニン食で6週間飼育した後サクリファイスし、血液サンプルおよび腎臓サンプルを回収した。

## 4. 研究の成果

慢性腎臓病モデルのうち、野生型マウスの片側尿管結紮モデルでは、マウス腎臓における組織学的な線維化病変の増悪やコラーゲン線維の転写亢進などの腎病変に加え、

lnc-RNA-X の発現が低下したことから、当該分子の発現低下が腎線維化病態進展に関与する可能性が示唆された。また、lnc-RNA-X KO マウスの腎臓では野生型マウスに比べ、片側尿管結紮モデルにおけるコラーゲン線維やフィブロネクチンなど細胞外マトリクス成分の発現が上昇する傾向にあった。また、全身性 lnc-RNA 過剰発現マウスは片側尿管結紮モデルにおいて腎線維化病態の改善傾向を認めた。今後は、腎線維化病態における lnc-RNA-X 発現の有無の影響をより明らかにするためにさらなる条件検討が必要である。

次に、アデニン腎症において、当該モデルマウスは通常飼育マウスに比して、腎機能の低下に伴う血液中の BUN, クレアチニン濃度の上昇を認めた。更に、当該モデルでは腎臓内の lnc-RNA-X 発現が有意に低下しており、当該分子の発現低下が慢性腎臓病の病態進展に関与する可能性が示唆された。また、アデニン腎症における lnc-RNA-X KO マウスの腎機能低下の程度は野生型マウスに比べやや強い傾向にあるものの effect size はあまり大きくないため、モデル作成期間を変更する等さらなる条件検討が必要である。

本研究では遺伝子改変マウスを用い、慢性腎臓病進展病態における lnc-RNA-X の役割について検討を続けてきたが、用いた慢性腎臓病関連マウスモデルについてはさらに条件検討を進めるとともに、今後は慢性腎臓病に限らず急性期病態や腎生理等に関連する解析も並行して行い、本研究を更に発展させる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Morinaga Jun, Kakuma Tatsuyuki, Tajiri Saeko, Tajiri Tetsuya, Tomita Kimio, Kitamura Kenichiro, Oike Yuichi, Mukoyama Masashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Circulating angiopoietin-like protein 2 levels and mortality risk in patients receiving maintenance hemodialysis: a prospective cohort study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nephrology Dialysis Transplantation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ndt/gfz236	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Osumi Hironobu, Horiguchi Haruki, Kadomatsu Tsuyoshi, Tashiro Kyosei, Morinaga Jun, Takahashi Takashi, Ikeda Koei, Ito Takaaki, Suzuki Makoto, Endo Motoyoshi, Oike Yuichi	4. 巻 -
2. 論文標題 Tumor cell derived angiopoietin like protein 2 establishes a preference for glycolytic metabolism in lung cancer cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14337	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakahara Satoshi, Fukushima Satoshi, Okada Etsuko, Morinaga Jun, Kubo Yosuke, Tokuzumi Aki, Matsumoto Sayaka, Tsuruta-Kadohisa Mina, Kimura Toshihiro, Kuriyama Haruka, Miyashita Azusa, Kajihara Ikko, Jinnin Masatoshi, Ihn Hironobu	4. 巻 97
2. 論文標題 MicroRNAs that predict the effectiveness of anti-PD-1 therapies in patients with advanced melanoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 77 ~ 79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2019.11.010	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sato Michio, Miyata Keishi, Tian Zhe, Kadomatsu Tsuyoshi, Ujihara Yoshihiro, Morinaga Jun, Horiguchi Haruki, Endo Motoyoshi, Zhao Jiabin, Zhu Shunshun, Sugizaki Taichi, Igata Kimihiro, Muramatsu Masashi, Minami Takashi, Ito Takashi, Bianchi Marco E, Mohri Satoshi, Araki Kimi, Node Koichi, Oike Yuichi	4. 巻 83
2. 論文標題 Loss of Endogenous HMGB2 Promotes Cardiac Dysfunction and Pressure Overload-Induced Heart Failure in Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 368 ~ 378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-18-0925	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kurahashi Ryoma, Kadomatsu Tsuyoshi, Baba Masaya, Hara Chiaki, Itoh Hitoshi, Miyata Keishi, Endo Motoyoshi, Morinaga Jun, Terada Kazutoyo, Araki Kimi, Eto Masatoshi, Schmidt Laura S., Kamba Tomomi, Linehan W. Marston, Oike Yuichi	4. 巻 -
2. 論文標題 MicroRNA 204 5p: A novel candidate urinary biomarker of Xp11.2 translocation renal cell carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14026	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishii Toshihisa, Furuya Fumihiko, Takahashi Kazuya, Shikata Miho, Takamura Takeyuki, Kobayashi Hidetoshi, Miyazaki Asako, Morinaga Jun, Terada Kazutoyo, Oike Yuichi, Kanda Eiichiro, Kitamura Kenichiro	4. 巻 104
2. 論文標題 Angiopoietin-Like Protein 2 Promotes the Progression of Diabetic Kidney Disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism	6. 最初と最後の頁 172 ~ 180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/jc.2017-02705	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morinaga Jun, Zhao Jiabin, Endo Motoyoshi, Kadomatsu Tsuyoshi, Miyata Keishi, Sugizaki Taichi, Okadome Yusuke, Tian Zhe, Horiguchi Haruki, Miyashita Kazuya, Maruyama Nobuhiro, Mukoyama Masashi, Oike Yuichi	4. 巻 13
2. 論文標題 Association of circulating ANGPTL 3, 4, and 8 levels with medical status in a population undergoing routine medical checkups: A cross-sectional study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 0193731-0193731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0193731	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanoue H., Morinaga J., Yoshizawa T., Yugami M., Itoh H., Nakamura T., Uehara Y., Masuda T., Odagiri H., Sugizaki T., Kadomatsu T., Miyata K., Endo M., Terada K., Ochi H., Takeda S., Yamagata K., Fukuda T., Mizuta H., Oike Y.	4. 巻 26
2. 論文標題 Angiopoietin-like protein 2 promotes chondrogenic differentiation during bone growth as a cartilage matrix factor	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Osteoarthritis and Cartilage	6. 最初と最後の頁 108 ~ 117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.joca.2017.10.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Itoh Hitoshi, Kadomatsu Tsuyoshi, Tanoue Hironori, Yugami Masaki, Miyata Keishi, Endo Motoyoshi, Morinaga Jun, Kobayashi Eisuke, Miyamoto Takeshi, Kurahashi Ryoma, Terada Kazutoyo, Mizuta Hiroshi, Oike Yuichi	4. 巻 293
2. 論文標題 TET2-dependent IL-6 induction mediated by the tumor microenvironment promotes tumor metastasis in osteosarcoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 1596-1609
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-018-0160-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oike Yuichi, Tian Zhe, Miyata Keishi, Morinaga Jun, Endo Motoyoshi, Kadomatsu Tsuyoshi	4. 巻 81
2. 論文標題 ANGPTL2 A New Causal Player in Accelerating Heart Disease Development in the Aging	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 1379 ~ 1385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-17-0854	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 森永潤, 深水大天, 岡留由祐, 尾池雄一, 向山政志
2. 発表標題 健康診断受診者における各種測定項目と血中ANGPTL 3, 4, 8濃度の関連性の検討: 横断研究
3. 学会等名 第41回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 森永潤, 深水大天, 北村健一郎, 尾池雄一, 向山政志
2. 発表標題 血液透析患者において血中ANGPTL2濃度は血管老化と関連する
3. 学会等名 第23回日本心血管内分泌代謝学会学術総会
4. 発表年 2018年 ~ 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	尾池 雄一  (Oike Yuichi)  (90312321)	熊本大学・分子遺伝学講座・教授   (17401)	
連携研究者	向山 政志  (Mukoyama Masashi)  (40270558)	熊本大学・腎臓内科学講座・教授   (17401)	