

令和 5 年 5 月 11 日現在

機関番号：82506

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K08741

研究課題名(和文) 糖尿病性腎臓病の腎組織を用いたトランスクリプトーム解析 - 新規治療法探索へ向けて -

研究課題名(英文) Transcriptome analysis of kidney biopsied tissues of diabetic kidney disease

研究代表者

今澤 俊之 (Imasawa, Toshiyuki)

独立行政法人国立病院機構(千葉東病院臨床研究部)・腎センター・腎センター長

研究者番号：80348276

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では結節性病変(NL)を有する糖尿病性腎臓病(DKD)予後決定因子を探索することを目的とした。そこで、腎生検を行い病理学的にNLを有するDKDと診断された症例を対象に、保存された残存腎生検検体を用いてトランスクリプトーム解析を行い、その結果をもとにバイオインフォマティクス解析を行い予後決定する上流因子の探索を試みた。その結果、CDH1、CD24、ESR1が候補因子として選ばれてきた。さらに同一症例の残存腎組織を用いてqRT-PCRならびに免疫染色を行った結果、予後良好群でESR1の発現が増強していることが示された。ESR1は結節病変のあるDKDに対し腎保護効果がある可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病性腎臓病(DKD)において結節性病変(NL)を有する症例では予後が悪い(eGFR低下スピードが急速)であることが知られており、現在有効な治療法がない。しかし実臨床においては、NLを有する症例でもeGFR低下が緩やかな症例もあり、予後の良い症例と悪い症例の差を生み出している因子を探求することで、腎保護因子が見いだされれば、新たな治療法に繋がり、NLを有するDKDの予後を改善させることができる可能性がある。今回我々はNLを有するDKDにおいてESR1が腎予後を改善する可能性がある因子であることを初めて見出した意義は以上の点からも大きな意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：It is known that diabetic kidney disease (DKD) patients with nodular lesions (NL) have a poor prognosis (rapid decline in eGFR), but some patients with NL also have a slow decline in eGFR. The purpose of this study was to explore factors associated with this difference in prognosis in order to identify renal protective factors. To this end, in this study, we performed transcriptome analysis on the remaining preserved renal biopsy specimens of patients with pathologically diagnosed DKD with NL after renal biopsy. In addition, bioinformatics analysis was performed to search for upstream factors in prognosis determination based on the results obtained. As a result, CDH1, CD24, and ESR1 have been selected as candidate of renoprotective factors. Furthermore, qRT-PCR and immunostaining of residual renal tissue from the same patients showed that ESR1 expression was enhanced in the good prognosis group. ESR1 may have a renoprotective effect on DKD with nodal involvement.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：糖尿病性腎臓病 結節病変 トランスクリプトーム解析

1. 研究開始当初の背景

糖尿病性腎臓病 (DKD) において結節性病変 (NL) を有する症例では予後が悪い (eGFR 低下スピードが急速) であることが知られており、現在有効な治療法がない (Furuichi K, et.al. BMJ Open Diabetes Res Care. 2020;8(1):e001157.)。しかし実臨床においては、NL を有する症例でも eGFR 低下が緩やかな症例もあるが、このような予後の違いを生み出す要因は明らかになっていない。

2. 研究の目的

予後の良い症例と悪い症例の差を生み出している因子を探求することで、腎保護因子が見いだされれば、新たな治療法に繋がり、NL を有する DKD の予後を改善させることができる可能性がある。そこで本研究では NL を有する DKD における予後決定因子 (腎保護効果の有する候補因子) を探索することを目的とした。

3. 研究の方法

年間 eGFR 低下率 $> 5 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ の症例を rapid decliner (RD)、それ以外を slow decliner (SD) と定義した。腎生検を受け、他に腎臓の合併症がなく、少なくとも 1 年間フォローアップされた 12 人の症例 (RD = 6、SD = 6) を対象とした。ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックの腎生検組織から total RNA を単離し、マイクロアレイ解析を行った。

4. 研究成果

マイクロアレイ解析 (合計 58,341 遺伝子プローブ) では、発現量が少ない遺伝子 (raw signals < 50)、RD と SD の差が少ない遺伝子 (processed signals < 0.3) を除外し、さらに解析する遺伝子として 14,227 を残した。合計 1,496 個の差次的発現遺伝子 (DEG) が、 p 値 < 0.05 、RD と SD グループ間の倍数変化 ≥ 2 で選択された。さらに、この結果をもとにバイオインフォマティクス解析を行った。Ingenuity Pathway Analysis システムを用いて、15 個の canonical pathway と 9 個の疾患または機能アノテーションが濃縮されていることが判明した。また、

上流制御因子解析により、73の上流制御因子が同定された。その中で、CBX5とCCN5の2つのレギュレーターだけが、RDグループでそれぞれ活性化制御因子と抑制制御因子として $p < 0.05$ と絶対 z スコア ≥ 2 を示した。次に制御因子効果解析を行ったところ、重要な上流制御因子であるCCN5を特定する1つの制御因子ネットワークが示されました。また、この制御因子ネットワークには、CDH1、CD24、ESR1など、ウイルス感染に關与する遺伝子が確認された。さらに、IPAは11から38までの25の相互作用ネットワークを示した。上位5番目にランクされたネットワークは、Cancer, Organismal Injury, and Abnormalities (score = 32)と關連しており、その中にCD24とESR1が含まれていた。そこで、RD群とSD群のCDH1、CD24、ESR1の発現量を比較するため、qRT-PCRを行った。その結果、SD群ではRD群に比べCD24とESR1の発現量が増加していたが(それぞれ $p=0.004$ 、 $p=0.022$) CDH1の発現量にはほとんど差がなかった($p=0.638$)。さらに、同一症例の腎生検残片体を用いた免疫組織染色にて、ESR1の発現量がSDで増強し(図1) 統計学的にも有意差があることが示された(図2)。以上より、NLを有するDKDにおいて、ESR1が腎保護効果を有する可能性が示された。

図 1

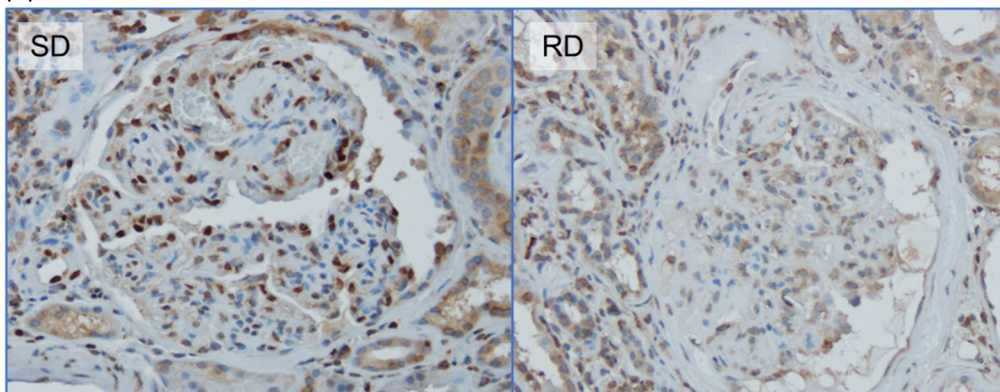
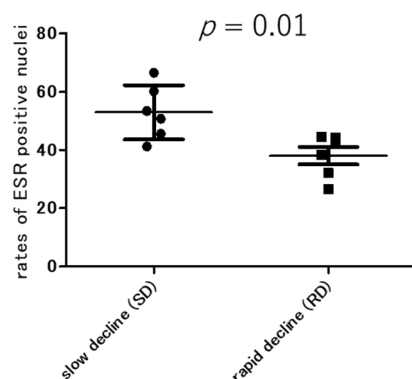


図 2



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 今澤俊之、北村博司、平野大志、鍋木康志、久保田浩之
2. 発表標題 シンポジウム3 腎臓研究の最前線「多層的Omics解析によるCKD研究」
3. 学会等名 第51回日本腎臓学会東部学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今澤俊之
2. 発表標題 教育講演5 「糖尿病性腎臓病の rapid decliner の病態を理解する」
3. 学会等名 第50回日本腎臓学会東部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今澤俊之、北村博司、鍋木康志、久保田浩之
2. 発表標題 シンポジウム6 腎診療におけるビッグデータ：何のために何ができる？ 「腎疾患における多層的オミックス解析研究の展望」
3. 学会等名 第50回日本腎臓学会東部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Toshiyuki Imasawa, Hiroyuki Unoki-Kubota, Daishi Hirano, Hiroshi Kitamura, Yasushi Kaburagi
2. 発表標題 Exploration of prognostic factors in diabetic nephropathy with nodular lesion using transcriptome analysis of human kidney tissues
3. 学会等名 第60回 European Renal Association Congress ERA 2023（国際学会）
4. 発表年 2023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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------