

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18098

研究課題名(和文) 尿路結石形成の分子機構におけるオンコスタチンMの役割の解明とその治療への応用

研究課題名(英文) The role of oncostatin M in urinary stone formation and novel therapeutic approach for urolithiasis

研究代表者

山下 真平 (Yamashita, Shimpei)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：20725569

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：オンコスタチンM (OSM)は、IL-6ファミリーのサイトカインであり、これまでの研究代表者らの研究結果から、OSMが尿路結石の形成を促進する作用を有する可能性があることが示唆されていた。本研究は、尿路結石形成におけるOSMの役割の解明、ならびに、OSMをターゲットとした新規治療法の開発を目的とした、マウスを用いた基礎研究である。

本研究結果から、OSMは近位尿細管上皮細胞や間質線維芽細胞に直接的に作用し、結晶結合蛋白や炎症性サイトカインの産生を促し、尿路結石形成を促進すること、OSM中和抗体投与が尿路結石形成を抑制するための新規治療となり得ることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

その高い有病率、及び再発率から、尿路結石の分子細胞生物学的な発生機序に基づく革新的な尿路結石治療法の確立が今後の課題である。

本研究の結果は、これまで知られていなかった尿路結石過程におけるOSMの働きを明らかにするものであり、学術的にも意義のある成果であると考えている。また、将来的に尿路結石形成機序の解明や新規分子標的治療薬の開発に貢献できる可能性があり、尿路結石に悩む患者が多いことから、社会的意義も非常に大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Oncostatin M (OSM) is a member of the IL-6 family of cytokines, and our previous study have suggested that OSM might promote urinary stone formation. The aim of this study was to elucidate the role of OSM in urinary stone formation and to develop a novel therapeutic approach for urolithiasis focusing on OSM.

The results of the current study revealed that OSM directly stimulated renal proximal tubular epithelial cells and interstitial fibroblasts to produce crystal binding proteins and inflammatory cytokines, and promoted urinary stone formation. Moreover, administration of an OSM neutralizing antibody prevented urinary stone formation. We believe that the results of this study will contribute to the elucidation of the mechanism underlying urinary stone formation and the development of novel molecular targeted therapeutics.

研究分野：尿路結石症

キーワード：オンコスタチンM 尿路結石症

1. 研究開始当初の背景

食生活や生活様式の欧米化、人口構成の高齢化などに伴い、本邦における尿路結石症の生涯罹患率は男性 15.1%、女性 6.8%と上昇傾向にある。また、その 5 年再発率は 40-50%と高く、医療経済を圧迫する社会問題となっている。しかしながら、尿路結石の治療法は内服薬による排石促進や外科的治療による結石破砕が主である。申請者は尿路結石の分子細胞生物学的な発生機序に基づく革新的な尿路結石治療法の確立が今後の課題であると考えてきた。

そこで、研究代表者はこれまで、IL-6 ファミリーのサイトカインであるオンスチタン M (OSM)と尿路結石形成の関連性に着目した基礎研究を行ってきた。これまでの研究の結果から、8 週齢の野生型マウスにシュウ酸前駆物質である Glyoxylate を連日腹腔内投与する結石モデルマウスにおいて経時的に OSM および OSMR (OSM 受容体の特異的サブユニット)の発現を調べたところ、腎結晶沈着量の増加に伴って、それぞれ day6、day3 をピークに OSM、OSMR の発現は増加すること(図 1)、8 週齢の OSMR^{-/-}マウス、およびそのコントロールマウス (OSMR^{+/+}マウス)に Glyoxylate 80mg/kg を連日腹腔内投与し、腎結晶形成量を経時的に比較したところ、コントロールマウスで結晶形成量がピークとなる day6 において、OSMR^{-/-}マウスでは有意に結晶形成量が減少していること(図 2)、結石形成関連遺伝子や炎症性サイトカインの遺伝子発現についても比較したところ、OSMR^{-/-}マウスではコントロールマウスに比べ、day3 および day6 において、OPN、ANXA1、ANXA2 といった結石形成関連遺伝子や、TNF- α 、IL-1 β といった炎症性サイトカインの遺伝子発現が有意に減少していること、免疫組織学的染色を行ったところ、OSMR は、結石モデルマウスの腎において、EpCAM 陽性の尿細管上皮細胞、及び PDGFR 陽性の間質線維芽細胞に発現していることが明らかとなった。以上の結果から、OSM が尿細管上皮細胞や間質線維芽細胞に作用し、尿路結石の形成を促進する作用を有する可能性があることが示唆されたという背景があり、今回本研究を立案するに至った。

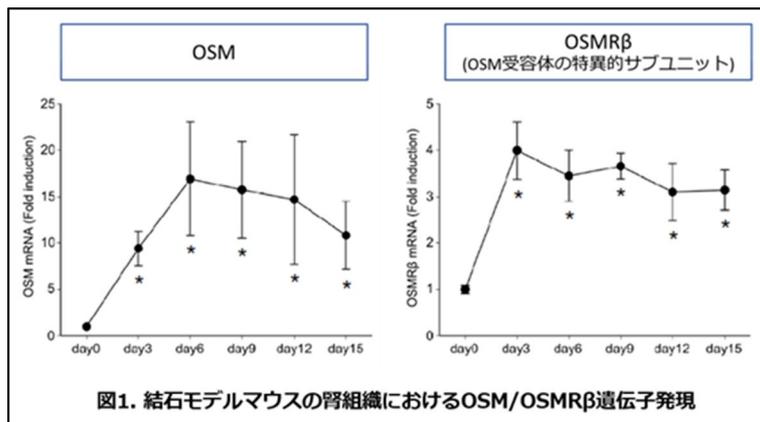


図1. 結石モデルマウスの腎組織におけるOSM/OSMRβ遺伝子発現

腎結晶沈着量の増加に伴って、それぞれ day6、day3 をピークに OSM、OSMR の発現は増加すること(図 1)、8 週齢の OSMR^{-/-}マウス、およびそのコントロールマウス (OSMR^{+/+}マウス)に Glyoxylate 80mg/kg を連日腹腔内投与し、腎結晶形成量を経時的に比較したところ、コントロールマウスで結晶形成量がピークとなる day6 において、OSMR^{-/-}マウスでは有意に結晶形成量が減少していること(図 2)、結石形成関連遺伝子や炎症性サイトカインの遺伝子発現についても比較したところ、OSMR^{-/-}マウスではコントロールマウスに比べ、day3 および day6 において、OPN、ANXA1、ANXA2 といった結石形成関連遺伝子や、TNF- α 、IL-1 β といった炎症性サイトカインの遺伝子発現が有意に減少していること、免疫組織学的染色を行ったところ、OSMR は、結石モデルマウスの腎において、EpCAM 陽性の尿細管上皮細胞、及び PDGFR 陽性の間質線維芽細胞に発現していることが明らかとなった。以上の結果から、OSM が尿細管上皮細胞や間質線維芽細胞に作用し、尿路結石の形成を促進する作用を有する可能性があることが示唆されたという背景があり、今回本研究を立案するに至った。

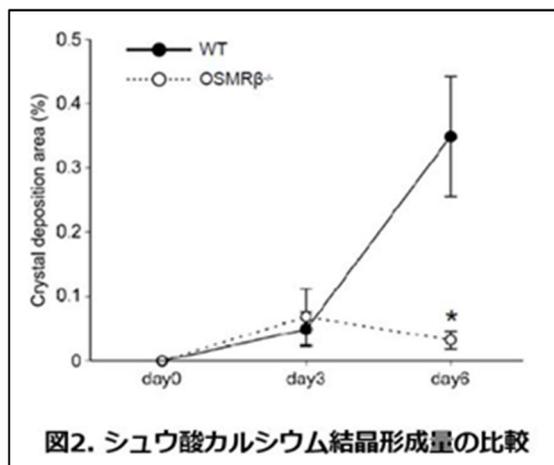


図2. シュウ酸カルシウム結晶形成量の比較

2. 研究の目的

尿路結石形成過程における OSM の詳細な役割、及び OSM をターゲットとした治療の可能性を検討することで、尿路結石形成の分子生物学的なメカニズムを解明し、同疾患の治療へと繋げること。

3. 研究の方法

(方法 1.) 腎尿細管上皮細胞および腎間質線維芽細胞に対する OSM の直接的作用の検討

シュウ酸前駆物質であるグリオキシレート(Gox) 80mg/kg を 3 日間腹腔内投与した 8 週齢の C57BL/6J マウス(結石モデルマウス)より腎を摘出する。コラゲナーゼにより分解処理したのち、磁気標識細胞分離装置 (Auto MACS : ミルテニーバイオテック社) を用いて分取する。分取した細胞を培養し、OSM で刺激した時の炎症性サイトカインや結石形成関連遺伝子の発現をリアルタイム PCR 法にて検討する。(図 3)



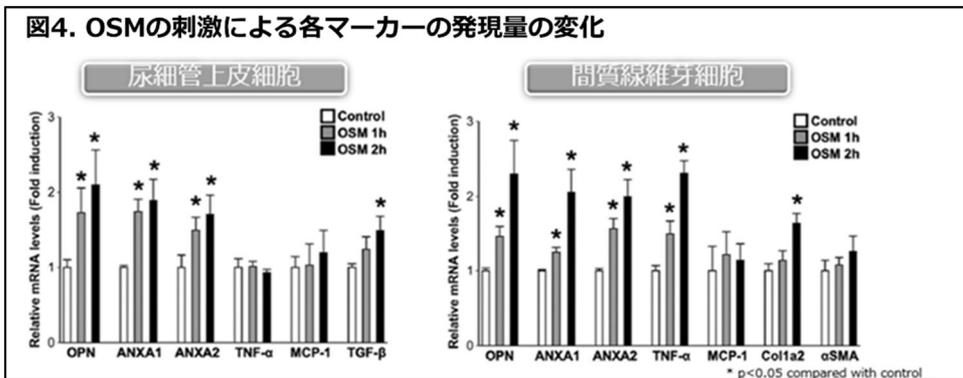
(方法 2.) OSM 中和抗体による結石形成抑制効果の検討

OSM をターゲットとした結石形成抑制効果の検討を行うため、8 週齢の C57BL/6J マウスに Gox80mg/kg を腹腔内投与するとともに、OSM の中和抗体を投与し、Gox 投与後の各ステージ(0, 3, 6 日)において、(1)腎結晶形成量に関する組織学的解析、(2)炎症性サイトカインや結石関連遺伝子に関する生化学的・分子細胞生物学的解析を行う。

4 . 研究成果

(結果 1.)

OSM の刺激により、尿管上皮細胞では結晶結合蛋白(OPN/ANXA1/ANXA2)および線維化マーカー(TGF- β)の遺伝子発現量が、間質線維芽細胞では結晶結合蛋白(OPN/ANXA1/ANXA2)、炎症性サイトカイン(TNF- α)および線維化マーカー(Col1a2)の遺伝子発現量が上昇した。(図 4)



(結果 2.)

OSM 中和抗体の投与により、腎結晶形成量は減少し、炎症性サイトカイン、結石関連遺伝子の発現が低下する可能性が示唆された。

以上の結果から、OSM は近位尿管上皮細胞や間質線維芽細胞に直接的に作用し、結晶結合蛋白や炎症性サイトカインの産生を促し、尿路結石形成を促進すること、OSM 中和抗体投与が尿路結石形成を抑制するための新規治療となり得ることが明らかとなった。本研究結果は、尿路結石形成機序の解明や新規分子標的治療薬の開発に貢献できるものと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamashita Shimpei, Komori Tadasuke, Kohjimoto Yasuo, Miyajima Atsushi, Hara Isao, Morikawa Yoshihiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Essential roles of oncostatin M receptor signaling in renal crystal formation in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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） 10.1038/s41598-020-74198-3	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山下真平、小森忠祐、柑本康夫、森川吉博、原勲
2. 発表標題 尿路結石形成におけるオンコスタチンMの役割の解明
3. 学会等名 第30回泌尿器科分子・細胞研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下真平、小森忠祐、柑本康夫、森川吉博、原勲
2. 発表標題 尿路結石形成におけるオンコスタチンMの役割の解明
3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下真平、小森忠祐、柑本康夫、森川吉博、原勲
2. 発表標題 オンコスタチンMは尿路結石形成に関与する新規分子である
3. 学会等名 尿路結石症学会第30回学術集会
4. 発表年 2021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
---------	---------