

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：23903

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22982

研究課題名（和文）オミクス解析による結石形成分子ネットワーク解明とゲノム創薬による新規治療薬の開発

研究課題名（英文）Elucidation of the molecular network of stone formation by omics analysis and development of novel therapeutic agents through genomic drug discovery

研究代表者

茶谷 亮輔（Chaya, Ryosuke）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・助教

研究者番号：80881755

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではヒト尿路結石症ゲノムワイド関連解析（GWAS）と結石モデルマウスの網羅的解析を統合オミクス解析することで腎臓特異的な尿路結石症の関連分子と細胞種を同定した。尿路結石症GWASと結石モデルマウスの腎臓について遺伝子発現、タンパク、リン酸化ペプチドを網羅的に定量したものを統合解析することで新たな知見を得た。その結果、ヒト-マウスの統合解析では31遺伝子と21リン酸化部位が共通した結石関連分子として示した。UMODなどの、既知である結石関連分子の由来となる細胞種を指摘したこと、免疫系細胞由来のスカベンジャー遺伝子であるSTAB1などを新たな結石関連分子として同定したことが成果である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、「ヒト疾患の真の病態とモデル動物が示す病態は異なるものである」というモデル動物研究の最大の欠点について、ヒト疾患ゲノムワイド関連解析データを用いることで部分的に克服したことに大きな意義がある。

また本研究で用いたデータの多くは公開されているデータであり、生物学研究にバイオインフォマティクスが有用であることを示すモデルとなる研究である。

研究成果について、今回示した分子は尿路結石形成に原因として関わっている可能性が極めて高く、これらの分子を研究することが有用であることは勿論のことであるが、直接的なドラッグターゲットにもなり得る。

研究成果の概要（英文）：In this study, we identified kidney-specific urolithiasis-associated molecules and cell types by integrated omics analysis of human urinary tract stone disease genome-wide association analysis (GWAS) and comprehensive analysis of mouse models of stone formation. New insights were obtained by integrated analysis of comprehensive quantification of gene expression, proteins, and phosphorylated peptides for kidneys from GWAS of urinary tract stone disease and stone model mice. As a result, 31 genes and 21 phosphorylation sites were shown as common stone-related molecules in the integrated human-mouse analysis. The results include the identification of the cell types from which known stone-related molecules, such as UMOD, originate, and the identification of new stone-related molecules, such as STAB1, a scavenger gene derived from immune system cells.

研究分野：尿路結石症

キーワード：ゲノムワイド関連解析 遺伝子発現解析 プロテオーム解析 オミクス解析 バイオインフォマティクス

1. 研究開始当初の背景

尿路結石は、多因子によって引き起こされる疾患であり、これまでの研究から、単一の解析手法では限界があることが明らかになっています。そのため、より包括的な解析手法を用いて尿路結石の研究が行われています。

疾患の原因を探索する網羅的解析で代表的なものはゲノムワイド関連解析(GWAS)が挙げられますが、この研究が示せるものは原因となり得る遺伝子上の変異のみであり、具体的な効果臓器や分子は分かりません。疾患の関連分子を探索する方法として遺伝子発現解析やプロテオーム解析が用いられますが、この結果は疾患の原因を示しているのか疾患の結果を示しているのかが分かりません。これらを相補的に解析することで各解析の欠点を補うことができるのではないかとこのころに着想し、本研究を始めるに至りました。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ヒト尿路結石症のゲノムワイド関連解析と結石モデルマウスの網羅的解析を統合オミクス解析することで、腎臓特異的な尿路結石症に関連する分子および細胞種を同定することです。具体的には、ヒトの遺伝的リスク遺伝子と結石形成に重要な細胞種を解析し、結石モデルマウスの腎臓における遺伝子発現、タンパク質、リン酸化ペプチドの網羅的な定量化を行いました。

3. 研究の方法

日本人集団(BioBank Japan)およびヨーロッパ人種(UK Biobank + FinnGen)のGWASデータを用いて尿路結石症の解析を行いました。遺伝子レベルで尿路結石症の遺伝的リスクを推定するために、MAGMAを用いました。この結果につき、FUMAを用いて解析することにより、結石関連遺伝子が腎臓でエフェクトを持っていることを確認し、腎臓が結石の最も有力な研究対象臓器であることを示します。また、この結果を他のメトリクスで保証するためにLD Score regressionを用いて遺伝的リスクが集中している臓器が腎臓であることを確認します。また臓器レベルではなく更に解像度が高い細胞種レベルで遺伝的リスクが集中している部位を同定するために、scDRSを用いました。

結石モデルマウスの腎臓について、遺伝子発現解析(RNA-seq)およびプロテオーム解析(LC-MS)を実施しました。結石モデルマウスはグリオキシル酸を腹腔内投与することで腎臓にシュウ酸カルシウムの結晶を生じるモデル動物です。グリオキシル酸の投与日数を0日(Control)、1日、3日、6日、12日と群別することにより、経時的な分子の変動を捉えることができました。プロテオーム解析については、タンパクの総量を網羅的に計測するWhole cell proteome解析と、リン酸化部位のみをペプチドとして定量するPhosphoproteome解析を実施しました。遺伝子発現解析では10828遺伝子、Whole cell proteome解析では6969タンパク、Phosphoproteome解析では7217ペプチドを定量しました。発現変動解析を行うことでモデル動物における尿路結石関連分子を同定します。

さらに、公開されているマウスのシングルセルRNA-seqデータを利用して、腎臓の各細胞種特異的な遺伝子を定義しました。

統合解析は、ヒトの遺伝子IDをマウスの遺伝子IDにortholog変換することで比較可能にしました。ヒトGWASとモデル動物で共通して重要な分子を導出しました。またこれらが偶然生じた結果ではないことを示すための統計検定は、Fisherの正確検定を用いました。

研究全体を通して、多重検定補正はBenjamini-Hochberg法を用いました。

4. 研究成果

ヒトGWASをMAGMAで解析した結果、113の遺伝子がヒトの遺伝的リスク遺伝子として同定されました。FUMAで解析した結果、GTEx V8における細胞種の中で、Kidney_cortexに特異的な遺伝子が多く含まれていました。LDSCでも同様に確認したところ、腎臓関連領域に遺伝的リスクがエンリッチしていることを確認しました。scDRSを用いて、腎臓において遺伝的リスクがエンリッチしている細胞種を推定したところ、集合管主細胞と免疫系細胞に遺伝的リスクが濃縮されていることがわかりました。

モデル動物の研究では、RNA-seqで1173遺伝子、Whole cell proteomeで342タンパク、Phosphoproteomeで516リン酸化ペプチドが有意に変動していました。とくにRNA-seqについて、どのような細胞種由来の遺伝子が特に変動しているかを算出したところ、近位尿細管由来、免疫系細胞由来の遺伝子が最も変動していることがわかりました。

ヒト-マウスの統合解析により、MAGMAの結果とモデル動物における遺伝子発現解析およびPhosphoproteome解析の結果は有意に共通性が高く、これらの間には生物学的な関連性があることが示されました。その結果、尿路結石に関連する31個の遺伝子および

21 個のリン酸化部位が同定されました。これらの分子は、UMOD や APOM など、既知の結石関連分子を含んでおり、結果の妥当性が示されました。また、公開されているマウス腎のシングルセルデータから、UMOD は集合管、APOM は近位尿細管で結石形成に関与していることが同定されました。また上述したエンリッチメント解析の結果から、ヒト-マウスで共通して免疫系細胞が重要な役割を果たしていることが示唆されました。

本研究の成果は、既知の結石関連分子である UMOD などの由来となる細胞種を明確にし、また、新たな結石関連分子である免疫系細胞由来のスカベンジャー遺伝子である STAB1 などを同定することに成功しました。これにより、尿路結石の病態理解や治療法開発に向けた重要な知見が得られました。

以上が、尿路結石に関する網羅的解析と統合オミクス解析による研究成果の報告です。今後の研究において、これらの結果を基にさらなる解析や実験を進めることが期待されます。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 茶谷亮輔
2. 発表標題 結石モデルマウスのじん組織におけるメタボローム解析
3. 学会等名 尿路結石症学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 茶谷亮輔
2. 発表標題 尿路結石研究における腎盂粘膜組織の遺伝子発現解析データクオリティコントロール法の検討
3. 学会等名 第109回日本泌尿器科学会総会
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
---------	---------