

令和 6 年 9 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02932

研究課題名（和文）腸腎連関ネットワークの解明による腎臓病治療法の開発

研究課題名（英文）Development of a new renal therapy through Gut-renal axis

研究代表者

阿部 高明（ABE, TAKAAKI）

東北大学・医工学研究科・教授

研究者番号：80292209

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：ミトコンドリア機能異常に伴う腎疾患（ミトコンドリア関連腎症）は多くの病態を惹起するが特異的な治療薬は無く既存治療を行なうしかなかった。申請者はATP産生を促進する新規合成インドール化合物MA-5を見いだした。MA-5の原型となった植物ホルモンのIAAが人間の体内にある理由は腸内細菌にある。ヒトの内共生体のミトコンドリアと外共生体の腸内細菌叢は低分子化合物により相互に作用し宿主のヒトの健康と寿命を規定する。本研究は腸腎連関を解明するためにミトコンドリアと腸内細菌叢の相互の制御ネットワークを解明しミトコンドリア機能改善作用を解明して腸から腎ミトコンドリア制御する機構を解明し新たな治療を開発する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトの腸内細菌叢は宿主の栄養や免疫制御を担い、CKD患者の腸内細菌叢は尿毒素産生や炎症を惹起して腎障害を増悪する「ディスバイオーシス」の状態にある。申請者はこの「腸腎連関」をCKD治療に応用する研究を世界に先駆けて推進し、新規下剤やSGLT2阻害薬、尿毒素合成酵素阻害薬などが腸内細菌叢を変化させ尿毒素の低減と腎機能改善をもたらすこと報告した。腸内細菌の代謝物を研究する事がミトコンドリア機能調節の新しいメカニズム解明に繋がり、最終的にミトコンドリア腎症の治療に結付くと考え本申請に至った。

研究成果の概要（英文）：Chronic Kidney diseases associated with abnormal mitochondrial function (mitochondrial-related nephropathy) cause many pathological conditions, but there are no specific therapeutic drugs, and existing treatments have been the only option. The applicant has discovered MA-5, a novel synthetic indole compound that promotes ATP production. The reason why the plant hormone IAA, which is the precursor to MA-5, exists in the human body lies in intestinal bacteria. Human endosymbiont mitochondria and exosymbiont intestinal flora interact with each other through low-molecular compounds to regulate the health and lifespan of the human host. In order to elucidate the intestinal-kidney link, this research will elucidate the mutual regulatory network between mitochondria and intestinal flora, elucidate the effect of improving mitochondrial function, elucidate the mechanism by which kidney mitochondria are controlled from the intestines, and develop new treatments.

研究分野：腎臓

キーワード：CKD 腸内細菌 ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

腎臓は心筋と並んで組織重量あたりのミトコンドリア量が豊富な臓器で、各組部位におけるミトコンドリア機能異常や機能低下は様々な腎疾患を引き起こす事が報告されている。近位尿細管は虚血・低酸素、敗血症ショック、シスプラチンなどの腎毒性物質により容易にミトコンドリア機能不全と ATP 産生低下が起こり、AKI の原因となる。ポドサイトは細胞体及び足突起まで豊富なミトコンドリアを有しており先天的/後天的にミトコンドリア機能異常の病態を起こしやすく治療抵抗性ネフローゼ症候群 (SRNS) や家族性巣状糸球体硬化症 (FSGS) でミトコンドリア異常の関与が指摘されている (ミトコンドリア関連腎症)。

逆に CKD において腸内細菌叢の悪化 (ディスバイオーシス) が生じ、腸内細菌が作り出す物質が宿主腎ミトコンドリアに悪影響を与えることも明らかになってきた (図 3)。即ち、腎不全時には腸内細菌が産生する代謝物が CKD では血中や体内に蓄積し尿毒素として腎機能や生命予後を悪くする“腸腎連関”の一つの本態である。

今日までに我々は腸内細菌がつくるフェノール由来のフェニル硫酸 (PS) が腎臓のミトコンドリア機能を傷害して糖尿病性腎症を発症させる事 (Nat Commun 2019) や、インドキシル硫酸がミトコンドリア障害を起しサルコペニアを進行させること (Sci Rep 2016) を報告した。そこで下剤のルビプロストン (JASN 2015)、リナクロチド (NDT 2020)、腸管上皮に発現する SGLT1 の阻害作用もある SGLT2 阻害薬のカナグリフロジン (AJP 2018) に腸内環境の改善が血中尿毒素を低化させ腎障害進行を抑制することを明らかにし、その結果をもとにルビプロストンによる保存期 CKD 患者 120 人を対象とした医師主導多施設二重盲検試験を終了した (試験 ID: UMIN000023850)。

そこで本研究では腸に焦点を当てて、実際の尿毒素産生の責任菌種の同定や、尿毒素産生を反映する腸内細菌叢の構成変化とそれらが作る代謝物を評価して、ミトコンドリア腎症に関連する腸内細菌、代謝物とそのクロストークを解明し、“腸腎連関”の本体を明らかにする事を目的とした。

2. 研究の目的

ヒトの腸内細菌叢は宿主の栄養や免疫制御を担い、CKD 患者の腸内細菌叢は尿毒素産生や炎症を惹起して腎障害を増悪する「ディスバイオーシス」の状態にあり、“腸腎連関”についてはディスバイオーシスが密接に関係することが明らかにされてきたが、どのような菌がどう影響しているのかはほとんど分かっていない。近年急速に発展した腸内細菌叢の研究分野の根本問題は、腸内細菌を構成する嫌気性菌をはじめとする多く菌が体外で培養出来ないため、腸内細菌叢解析を腸内細菌のメタゲノム解析による遺伝子情報の解析に依存していることにある。しかし糞便中の DNA の解析だけでは実際の尿毒素産生の責任菌種の同定や尿毒素産生を反映する腸内細菌叢の構成変化の評価が困難である。また腸管においては腸管上皮のバリア機能 (粘液層、腸管上皮のタイトジャンクション及び腸管上皮細胞から分泌される抗菌ペプチド) と粘膜下層の免疫担当細胞における腸管免疫機構及び蠕動運動による腸内容物の移動により、腸内細菌叢と宿主は絶妙なバランスを保って共生しており、腎機能障害でおこるリーキーガット症候群を再現するシステムが無く治療法の開発も困難であった。

そこで本研究は、

- ・ 腎不全患者の血・便メタボローム解析とメタゲノム解析による代謝物と菌叢解析
- ・ 菌叢のバランス、代謝物、バクテリオシンを解析して病態に係わる代謝物とリーキーガット症候群の病態を明らかにする事、
- ・ 抽出物のミトコンドリアに対する効果をミトコンドリア病患者線維芽細胞や患者 iPS 細胞から分化した細胞を用いて検討する事
- ・ 腸内細菌叢の多様性変貌とミトコンドリア傷害要因を同定するためショウジョウバエを用いて検討し腸腎連関の本態の解明を行う事を目的とした。

3. 研究の方法

腸からミトコンドリア創薬

構築した小腸及び大腸モデルにおいて、菌定着時と非定着時の培養液について、腸内細菌由来代謝産物のプロファイルおよび宿主細胞ミトコンドリア活性を測定することで、ミトコンドリア機能の活性化に関与する腸内細菌の代謝物の同定を行う。

今日までミトコンドリア機能の活性測定については細胞外フラックスアナライザーを用いて細胞内酸素消費速度 (OCR: Oxygen consumption rate) および細胞外酸性化速度 (ECAR: Extra-cellular acidification rate) を主に測定することで、ミトコンドリアおよび解糖系の活性を測定し、代謝産物が細胞内のエネルギー代謝様式におよぼす影響を解

析してきたが、ミトコンドリアの機能にはその他にも核、セルサイクル、ミトコンドリアの性状、ミトコンドリア分裂、ミトコンドリア膜電位、ミトコンドリア ROS の検討が必要である。そこで細胞イメージングと統合解析する事で、腸内細菌産生代謝物の本当のミトコンドリア機能調節代謝物の同定と機能調節メカニズムを解明する

ヘテロプラスミーを考慮した iPS 細胞を用いたミトコンドリア強化薬の探索

ミトコンドリア関連疾患の一つであるミトコンドリア脳筋症 (MELAS) は腎障害、心筋症、難聴、糖尿病を発症するが各患者の症状は多彩であり、同じ遺伝子変異を有していても心筋症を発症する患者と発症しない患者が存在する。その一つの原因として、異常ミトコンドリア遺伝子の各臓器における発現量の違い (ヘテロプラスミー) による影響が考えられている。近年申請者グループは疾患 iPS 細胞研究に携わっており (Toyohara T. Cell Stem Cell 27: 147, 2020)、iPS 細胞から作製した腎臓オルガノイドから糸球体足細胞と尿細管細胞の分化誘導が可能である。そこで腎症を呈する MELAS 患者 (腎症(+)) と呈さない MELAS 患者 (腎症(-)) 由来で類似したヘテロプラスミーを有する iPS 細胞を各種腎細胞に分化する。その上で、ミトコンドリア機能、活性酸素産生量を測定して腎症(+)-iPS 細胞由来腎細胞において腎症(-)-iPS 細胞由来腎細胞と比較してミトコンドリア腎症の病態を再現できるかどうかを検討する。

iPS 由来 mtDNA 異常(+)と mtDNA 異常(-)のコントロールの iPS から誘導した腎臓構成細胞 (足細胞、尿細管細胞、内皮細胞) を用い、酸化ストレスや尿毒素 (インドキシル硫酸、フェニル硫酸) 負荷によりミトコンドリア障害・腎障害モデルを用いて腎臓病に対する腸内細菌代謝物のスクリーニング系を行う。これらの技術によりミトコンドリア腎障害の治療薬開発のための病態評価系と創薬スクリーニングデバイスの確立を目指す (図 10)。さらに RNA-seq やメタボロームによる網羅的解析によって、腎症における MELAS 抵抗性防御因子の探索を行う。

腸管特異的 mtDNA 障害ショウジョウバエモデルの樹立と表現型解析

ショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) をモデルに、腸幹細胞におけるミトコンドリア機能不全が腸の恒常性に与える影響を解析する。ショウジョウバエでは、Gal4-UAS システムを利用して細胞タイプ特異的な遺伝子発現を誘導できる。本研究では、腸管上皮幹細胞 (ISC) と腸管前駆細胞 (EB) においてミトコンドリア局在配列を持つ酵素 APOBEC1 を発現するハエ (APOBEC 系統) を作製し、ミトコンドリア機能不全が腸の恒常性に与える影響を解析した。さらに、腸の健康維持に寄与する代謝物の特定とそのメカニズム解明を行うため、腸内環境の改善を目指した治療薬の効果を評価した。

4. 研究成果

いまだ根本的な治療法のない慢性腎不全に対して、我々は腸管が産生する尿毒素をコントロールすることで、腎保護効果が得られるのではないかと仮説のもと実験を行ってきた。その中で慢性便秘症治療薬ルビプロストン (腸管の Cl チャネルに作用し腸液の分泌を促す) をマウス腎不全モデルに投与すると腎不全時の腸内環境が改善し、体内の尿毒症物質蓄積を抑制し腎保護作用を示すことを明らかにした。そこで慢性腎不全患者を対象にした、ルビプロストンの尿毒症物質低下及び腎機能低下抑制効果を検討する臨床治験を行った (図 1)。その結果ルビプロストン 16 µg 投与群では最も重要な腎機能評価指標である eGFR の低下が抑制され、腎機能の改善を認めた。

腎保護の経路の探索に関して腸内細菌を介した薬剤効果は特定の腸内細菌がいるのかどうかで、効果発現が大きく変わることが知られている。そこで我々はルビプロストン投与により腎機能の改善のあるグループ (有効な腸内細菌保菌患者) とそうでないグループに着目して、血液・尿・糞便メタボローム、メタゲノム (系統解析・機能解析) データの多重比較解析を行った。ルビプロストン投与により腎機能の改善のグループに特徴的な変化を抽出するため、プラセボ群やルビプロストンを投与しても腎機能が改善しなかった患者群では変化がなく、腎機能が改善した群でのみ変化した代謝物、菌種、機能遺伝子を抽出した。

統合解析から遺伝子 X が腎機能の改善のあるグループで最も強く増加する遺伝子であることが分かった。遺伝子 X は腎機能の改善のあるグループではルビプロストンの投与前から多く保持しており、ルビプロストンの投与によりさらに増加することを確認した。遺伝子 X はミトコンドリアを活性化させる代謝物 B の合成に関わる酵素である。すなわちルビプロストンは腸内細菌叢を変化させ代謝物 B 合成を促進してミトコンドリアを活性化させて腎保護作用をもたらしている可能性が考えられた。

ショウジョウバエモデルを用いた系統において、mtDNA 変異を腸上皮幹細胞に誘発させた APOBEC 系統のハエでは、ミトコンドリア機能不全により腸幹細胞系列の維持が困難になり、腸の組織恒常性が損なわれ寿命が短縮することが明らかとなった。特に、メスのハエで顕著な寿命短縮が見られた。一方、ミトコンドリア機能改善薬の投与により、APOBEC 系統のハエの寿命が延長し、ミトコンドリア機能が部分的に回復することが示された。この結果は、腸内細菌叢とミトコンドリア機能の関連性を示唆しており、腸内環境の改善が腸の健康維持に重要であることを示している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mishima Eikan, Ito Junya, Abe Takaaki, Fedorova Maria, Proneth Bettina, Pratt Derek A., Conrad Marcus	4. 巻 608
2. 論文標題 A non-canonical vitamin K cycle is a potent ferroptosis suppressor	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 778 ~ 783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-022-05022-3	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 Higashitani Atsushi, Teranishi Mika, Nakagawa Yui, Itoh Yukou, Sudevan Surabhi, Szewczyk Nathaniel J., Kubota Yukihiro, Abe Takaaki, Kobayashi Takeshi	4. 巻 37
2. 論文標題 Increased mitochondrial Ca ²⁺ contributes to health decline with age and Duchene muscular dystrophy in <i>C. elegans</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202201489RR	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 Alam Md Morshedul, Kishino Akihiro, Sung Eunkyu, Sekine Hiroki, Abe Takaaki, Murakami Shohei, Akaike Takaaki, Motohashi Hozumi	4. 巻 60
2. 論文標題 Contribution of NRF2 to sulfur metabolism and mitochondrial activity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Redox Biology	6. 最初と最後の頁 102624 ~ 102624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.redox.2023.102624	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 Akiyama Yasutoshi, Takenaka Yoshika, Kasahara Tomoko, Abe Takaaki, Tomioka Yoshihisa, Ivanov Pavel	4. 巻 23
2. 論文標題 RTCB Complex Regulates Stress-Induced tRNA Cleavage	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 13100 ~ 13100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms232113100	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 Terui Hitoshi, Yamasaki Kenshi, Wada-Irimada Moyuka, Onodera-Amagai Mayuko, Hatchome Naokazu, Mizuashi Masato, Yamashita Riu, Kawabe Takeshi, Ishii Naoto, Abe Takaaki, Asano Yoshihide, Aiba Setsuya	4. 巻 7
2. 論文標題 Staphylococcus aureus skin colonization promotes SLE-like autoimmune inflammation via neutrophil activation and the IL-23/IL-17 axis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Immunology	6. 最初と最後の頁 1-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciimmunol.abm9811	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 Wu Xintong, Nagasawa Satoi, Muto Kasumi, Ueda Maiko, Suzuki Chitose, Abe Takaaki, Higashitani Atsushi	4. 巻 23
2. 論文標題 Mitochondrial Acid 5 Improves Duchenne Muscular Dystrophy and Parkinson's Disease Model of Caenorhabditis elegans	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 9572 ~ 9572
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23179572	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 Akiyama Yasutoshi, Lyons Shawn M., Fay Marta M., Tomioka Yoshihisa, Abe Takaaki, Anderson Paul J., Ivanov Pavel	4. 巻 9
2. 論文標題 Selective Cleavage at CCA Ends and Anticodon Loops of tRNAs by Stress-Induced RNases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2022.791094	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 Ho HJ, Kikuchi K, Oikawa D, Watanabe S, Kanemitsu Y, Saigusa D, Kujirai R, Ikeda-Ohtsubo W, Ichijo M, Akiyama Y, Aoki Y, Mishima E, Ogata Y, Oikawa Y, Matsuhashi T, Toyohara T, Suzuki C, Suzuki T, Mano N, Kagawa Y, Owada Y, Katayama T, Nakayama T, Tomioka Y, Abe T.	4. 巻 9
2. 論文標題 SGLT-1-specific inhibition ameliorates renal failure and alters the gut microbial community in mice with adenine-induced renal failure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e15902
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.15092	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 Mishima E, Abe T	4. 巻 45
2. 論文標題 Role of the microbiota in hypertension and antihypertensive drug metabolism.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hypertens Res.	6. 最初と最後の頁 246-253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-021-00804-0	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 Abe M, Akaishi T, Ishizawa K, Shinano H, Ohtomo H, Orikasa K, Takayama S, Masaura A, Miyazaki M, Abe T, Yokota K, Ishii T.	4. 巻 35
2. 論文標題 A massive natural disaster, the Great East Japan Earthquake, and the incidence of dialysis due to end-stage kidney disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Nephrol	6. 最初と最後の頁 719-724
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s40620-021-01140-9	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 Inoue H, Torigoe K, Torigoe M, Muta K, Obata Y, Suzuki T, Suzuki C, Abe T, Koji T, Mukae H, Nishino T.	4. 巻 55
2. 論文標題 Mitochondic acid-5 ameliorates chlorhexidine gluconate-induced peritoneal fibrosis in mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Med Mol Morphol.	6. 最初と最後の頁 27-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-021-00305-6.	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 Akiyama Y, Tomioka Y, Abe T, Anderson P, Ivanov P	4. 巻 18
2. 論文標題 In lysate RNA digestion provides insights into the angiogenin's specificity towards transfer RNAs.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RNA Biol.	6. 最初と最後の頁 2546-2555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15476286.2021.1930758.	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 阿部高明、菊地晃一、和田淳
2. 発表標題 腸管由来のフェニル硫酸は糖尿病性腎症のマーカーであり原因物質である
3. 学会等名 95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 阿部高明
2. 発表標題 ミトコンドリア先制医療
3. 学会等名 第25回日本心療内科学会総会・学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 阿部高明
2. 発表標題 ミトコンドリア先制医療
3. 学会等名 日本解剖学会 第67回 東北・北海道連合支部学術集会（招待講演）
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
研究分担者	大坪 和香子 (Otsubo Wakako) (00598203)	東北大学・農学研究科・助教 (11301)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	倉永 英里奈 (Kuranaga Erina) (90376591)	東北大学・生命科学研究科・教授 (11301)	

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			
ドイツ	Helmholtz Zentrum Munchen	Eikan Mshima	Marus Conrad	他1機関
米国	ハーバード大学			