

令和 6 年 5 月 13 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08271

研究課題名（和文）尿microRNAの発現調節機序の解明と腎疾患バイオマーカーへの臨床実装

研究課題名（英文）Elucidation of the regulatory mechanisms of urinary microRNA expression and its clinical implementation as a biomarker for renal disease

研究代表者

今田 恒夫（Konta, Tsuneo）

山形大学・医学部・教授

研究者番号：60333952

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）：本研究では、健常者・腎疾患患者計約200名の尿検体と腎生検組織検体を対象に、In situ hybridization法やマイクロアレイ解析を行い、腎組織内と尿中のmicroRNA発現の相関や尿中microRNAと腎予後との関連を検討した。その結果、複数種類の尿中microRNA発現は、腎組織病変、腎機能低下速度、治療反応性と相関しており、中でもmiR-5195は腎疾患の新規バイオマーカーとして利用できる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

microRNAは様々な疾患の病変形成に関与しているが、腎障害のバイオマーカーとして、実臨床に有用か不明であった。今回の検討結果から、ある種類の尿中microRNA発現は、腎組織病変、腎機能低下速度、治療反応性と相関しており、腎疾患の新規バイオマーカーとして利用できる可能性が示された。しかし、尿中microRNAは抽出・測定が簡便でない、基準となるmicroRNAがなく定量法が確立されていない、などの課題がある。そのため、尿中microRNAの実臨床への社会実装には、症例を集積し、これらの課題を克服する必要があると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In this study, in situ hybridization and microarray analyses were performed on urine and renal biopsy tissue samples from a total of 200 subjects, including healthy subjects and patients with renal disease, to investigate the correlation between microRNA expression in renal tissue and urine and the association between urinary microRNAs and renal prognosis. The results showed that several types of urinary microRNA (especially miR-5195) expression correlated with renal tissue lesions, rate of renal function decline, and response to treatment, indicating that they could be used as novel biomarkers of renal disease.

研究分野：腎臓病

キーワード：microRNA 腎臓病

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病の発症進行には、高血圧、糖尿病、塩分摂取などの環境因子と遺伝素因が関与するが、腎疾患関連遺伝子の発現制御や環境因子による修飾の詳細な機序は不明である。近年、18~25塩基からなる内因性 non-coding RNA である microRNA が、RNA 翻訳抑制を介して、炎症・免疫・代謝など様々な生体反応に関与することが明らかになった。

しかし、尿中 microRNA の発現機序や腎病変形成・予後との関連について検討した報告はなく、特に、地域住民を含むコホートなど大規模集団での、尿 microRNA の腎・心血管疾患新規バイオマーカーとしての有用性や治療ターゲットとしての可能性については検討されていない。

### 2. 研究の目的

腎組織・尿の microRNA の発現調節機序、microRNA と腎病変形成や予後との関連を明らかにし、尿 microRNA の新規バイオマーカーとしての有用性や治療ターゲットとしての可能性を検討する。

- (1) 腎組織・尿 microRNA を網羅的に解析し、腎疾患との関連を明らかにする。
- (2) 遺伝素因・環境因子や治療介入による microRNA 発現制御が腎病変・尿 microRNA 発現に与える影響を明らかにする。
- (3) 尿 microRNA が腎障害の診断、病態評価、予後予測の指標となるか明らかにする。

### 3. 研究の方法

- (1) ヒト腎生検症例：腎組織病変・腎障害指標と腎組織・尿 microRNA の関連を網羅的・経時的に解析し、腎病変の指標となる microRNA を同定する。
- (2) 進行性腎障害動物モデル：(1)で同定された腎組織・尿 microRNA の病変進行や治療介入による変化、特定の microRNA 抑制が腎病変に与える影響を評価する。
- (3) 地域住民、腎疾患患者コホート：microRNA と遺伝素因・環境因子の関連、腎不全や心血管疾患発症リスク評価に尿 microRNA が有効か検証する。

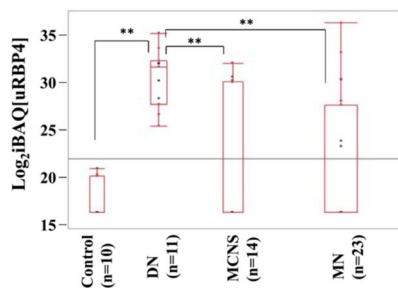
これらの結果を統合し、腎組織・尿 microRNA の発現調節機序と疾患バイオマーカーとしての有用性と治療ターゲットとしての可能性を明らかにする。

### 4. 研究成果

研究計画書に従い、主にヒト腎疾患症例の腎生検・尿検体を対象として、腎病変と腎組織・尿 microRNA・プロテオームの関連についての横断的・縦断的解析を行い以下の知見を得た。

#### <横断的解析>

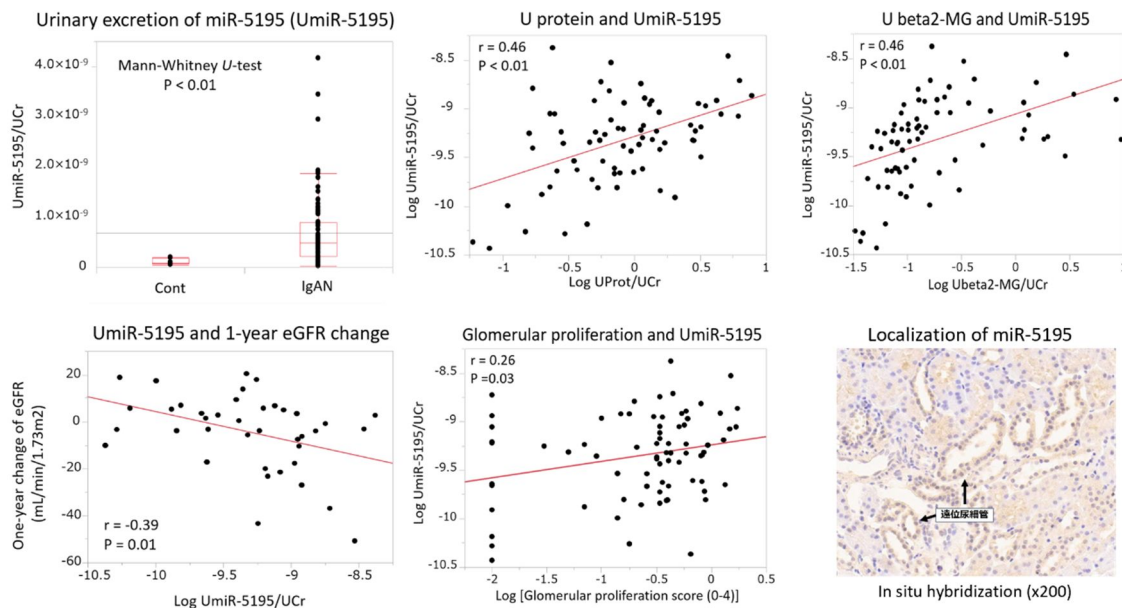
- (1) 腎疾患症例における尿中総 microRNA 量と腎病変の関連について：様々な腎疾患をもつ 200 症例の腎生検症例と健常例の尿から microRNA を抽出し、ほぼ全例で尿中 microRNA が検出可能であった。
- (2) 尿中 microRNA 濃度は尿蛋白と正相関したが、腎組織変化（糸球体内増殖性変化、硬化病変、間質線維化）との相関は有意ではなかった。腎組織と尿の microRNA 発現の程度は有意な正相関を示した。腎病変の種類により尿中の高発現 microRNA プロファイルが異なっていた。
- (3) IgA 腎症約 100 例における尿中 microRNA と腎病変の関連：尿中 miR-192 と miR-200c 濃度は、糸球体増殖性変化と有意な負の相関を認めた。
- (4) 糖尿病性腎症、微小変化型ネフローゼ、膜性腎症症例の血中尿中プロテオーム解析：糖尿病性腎症 11 例、微小変化型ネフローゼ 14 例、膜性腎症 23 例を対象に、質量分析計を用いて、百数十種類の血中尿中プロテオームを網羅的に解析し、尿蛋白定量のみでは鑑別が困難なこれらの疾患の推定に、retinol-binding protein 4 (RBP4)、plasma apolipoprotein A-II、SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 の尿中濃度や serotransferrin、immunoglobulin G、afamin、complement C3 などの尿中血中濃度比が有用であることを報告した (Araumi A, et al. Biochem Biophys Rep. 2021)。



- (5) 健常者と比較し、IgA 腎症例で尿中での発現が大きく亢進している miR-5195 について検討したところ、尿中 miR-5195 発現量は、尿中総蛋白濃度、尿中総 microRNA 濃度、尿中ベータ 2 ミクログロブリンや尿中 NAG などの尿細管障害マーカー、糸球体増殖性病変と有意な相関を示した。しかし、尿中 miR-5195 発現量は、糸球体硬化や間質線維化の程度、GFR とは有意な相関を示さなかった。
- (6) 腎生検組織の In situ hybridization 法による検討では、糸球体、尿細管、間質の各細胞に様々な種類の microRNA が発現しているが、特に近位・遠位尿細管上皮細胞での発現が強かった。

< 縦断的解析 >

- (7) IgA 腎症約 100 例における尿中 microRNA と 1 年間の腎機能 (推定 GFR) 変化の関連を検討したところ、尿中総 microRNA 濃度は 1 年間の eGFR 変化との関連は有意ではなかった。
- (8) 尿中 miR-5195 濃度は 1 年後の GFR 変化と有意な負の相関を示していた。その相関は、ステロイド等による治療介入群と比較して、未治療群でより強かった。さらに、IgA 腎症未治療例の 1 年後の GFR 変化と尿中 miR-5195 発現量の相関は、尿蛋白濃度との相関よりも高値であったことから、現在、臨床で用いられている尿蛋白よりも予後予測能が高い可能性が示唆された。(2023 米国腎臓学会発表)



< まとめ >

以上の結果から、複数種類の尿中 microRNA の発現は、腎組織病変、腎機能低下速度、治療反応性と相関しており、尿中 microRNA は腎疾患の腎疾患の予後や組織型鑑別の新規バイオマーカーとして利用できる可能性が示された。しかし、尿中 microRNA は抽出・測定が簡便でない、基準となる microRNA がなく定量法が確立されていない、などの課題がある。そのため、尿中 microRNA の実臨床への社会実装には、症例を集積し、これらの課題を克服する必要があると考えられた。

< 引用文献 >

Araumi A, Osaki T, Ichikawa K, Kudo K, Suzuki N, Watanabe S, Watanabe M, Konta T. Urinary and plasma proteomics to discover biomarkers for diagnosing between diabetic nephropathy and minimal change nephrotic syndrome or membranous nephropathy. *Biochem Biophys Res.* 2021;27:101102.

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 Araumi Akira, Osaki Tsukasa, Ichikawa Kazunobu, Kudo Kosuke, Suzuki Natsuko, Watanabe Sayumi, Watanabe Masafumi, Konta Tsuneo	4. 巻 27
2. 論文標題 Urinary and plasma proteomics to discover biomarkers for diagnosing between diabetic nephropathy and minimal change nephrotic syndrome or membranous nephropathy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 101102 ~ 101102
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrep.2021.101102	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kamei, Keita, Suzuki Natsuko, Ichikawa Kazunobu, Watanabe Masafumi, Konta Tsuneo
2. 発表標題 The Correlation Between Urinary microRNA-5195 and Renal Parameters in Patients with IgA Nephropathy
3. 学会等名 Kidney Week 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
---------	---------