

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04835

研究課題名(和文)腎臓病における代謝リプログラミングと hypoxic memoryの解明

研究課題名(英文)Metabolic Reprogramming and Hypoxic Memory in Kidney Disease

研究代表者

南学 正臣 (Nangaku, Masaomi)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：90311620

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)：低酸素状態の培養尿細管細胞および血管内皮細胞では、エネルギー代謝関連分子および線維化促進分子の発現変化が起きていた。低酸素状態で培養した尿細管細胞では、転写調節因子の相乗的な効果により線維化が促進した。新規酸素分圧感知プローブにより、腎臓の酸素分圧を *in vivo* で正確に測定することが可能となった。その結果、貧血や糖尿病の状態では腎臓の酸素分圧が低下すること、急性腎障害から腎臓の線維化が進行する過程で腎臓の低酸素が起きていることが分かった。更に、この急性腎障害に伴って低酸素が起こること進む腎臓の線維化に対してエピジェネティックな介入をすることにより、線維化の進行を防ぐことができた。

研究成果の概要(英文)：Cultured tubular cells and endothelial cells exposed to hypoxia demonstrated changes in expression levels of genes related to energy metabolism and fibrosis. Fibrogenic responses by tubular cells cultured under hypoxic conditions are likely to be regulated by synergistic effects of transcriptional factors. We developed a novel phosphorescence probe that allows accurate measurement of oxygen tensions of the kidney *in vivo*. We observed decreases in oxygen tensions in the kidney of animals with anemia or diabetes, and we also found hypoxia of the kidney after acute kidney injury leading to fibrosis. Furthermore, we improved this hypoxia-induced fibrosis after acute kidney injury by performing epigenetic interventions.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：低酸素 HIF 慢性腎臓病 腎不全 エネルギー代謝 エピジェネティクス

## 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病患者は本邦で 1330 万人いるにも関わらず、その有効な治療法は未だになく、患者予後の観点からも医療経済の観点からも新規治療の開発が急務となっている。

慢性腎臓病 CKD の進行には尿細管間質の final common pathway が働いていると考えられており、その機序として低酸素の重要性が指摘されている。腎臓の低酸素の原因としては、線維化による血管の脱落や酸素拡散能の低下に加え、尿毒素によるエネルギー代謝の変化も寄与している。腎臓を始めとする各臓器の低酸素に対する防御反応は、転写調節因子 hypoxia-inducible factor (HIF) が司っている。

## 2. 研究の目的

慢性腎臓病 CKD の進行には尿細管間質の低酸素が重要である。腎臓の低酸素の原因としては、線維化による血管の脱落や酸素拡散能の低下に加え、尿毒素によるエネルギー代謝の変化も寄与している。腎臓を始めとする各臓器の低酸素に対する防御反応は、転写調節因子 hypoxia-inducible factor (HIF) が司っている。HIF のターゲット分子には酸素供給を増加させる適応応答を誘導するもののみならず、エネルギー代謝を変化させて細胞機能を調節する(代謝リプログラミング)とともに、ヒストン修飾酵素の発現を調節しエピジェネティックな変化を通じて長期的な遺伝子発現変化に影響を与える(hypoxic memory)ものがあることが明らかにされてきている。

本研究では、申請者が世界に先駆けて展開してきた CKD における低酸素による病態進行機転に関する研究を発展・新展開させ、細胞外フラックスアナライザーを用いて腎臓病の病態生理についてエネルギー代謝の側面からの理解を深め、transcriptome、ChIP-seq を利用してその調節機構を明らか

にする。これにより腎臓における低酸素応答の詳細の理解を深め、HIF 活性化による代謝リプログラミングと hypoxic memory の病態生理学的意義を読み解き、CKD 進行の病態解明および新規治療ターゲットを同定することを目的とした。

## 3. 研究の方法

培養尿細管細胞と血管内皮細胞を低酸素状態で培養し、microarray および RNA-Seq により遺伝子発現変化を調べた。

また、細胞内の低酸素状態を正確に評価するためのプローブの開発を行った。

## 4. 研究成果

低酸素状態の培養尿細管細胞および血管内皮細胞では、エネルギー代謝関連分子および線維化促進分子の発現変化が起きていた。低酸素状態で培養した尿細管細胞では、転写調節因子の相乗的な効果により線維化が促進する可能性が示された。

新規酸素分圧感知プローブを開発してその性能を向上させることにより、腎臓の酸素分圧を in vivo で正確に測定することが可能となった。その結果、貧血や糖尿病の状態でも腎臓の酸素分圧が低下すること、急性腎障害から腎臓の線維化が進行する過程で腎臓の低酸素が起きていることが分かった。

更に、この急性腎障害に伴って低酸素が進むことで進む腎臓の線維化に対してエピジェネティックな介入をすることにより、線維化の進行を防ぐことができることを示した。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 14 件)

Hirakawa Y, Yoshihara T, Kamiya M, Mimura I, Fujikura D, Masuda T, Kikuchi

R, Takahashi I, Urano Y, Tobita S, Nangaku M. Quantitating intracellular oxygen tension in vivo by phosphorescence lifetime measurement. *Sci Rep*. 2015 Dec 8;5:17838. doi: 10.1038/srep17838.

Yamaguchi J, Tanaka T, Eto N, Nangaku M. Inflammation and hypoxia linked to renal injury by CCAAT/enhancer-binding protein  $\delta$ . *Kidney Int*. 2015 Aug;88(2):262-75. doi: 10.1038/ki.2015.21

Motonishi S, Nangaku M, Wada T, Ishimoto Y, Ohse T, Matsusaka T, Kubota N, Shimizu A, Kadowaki T, Tobe K, Inagi R. Sirtuin1 Maintains Actin Cytoskeleton by Deacetylation of Cortactin in Injured Podocytes. *J Am Soc Nephrol*. 2015 Aug;26(8):1939-59  
doi: 10.1681/ASN.2014030289

Higashijima Y, Tanaka T, Yamaguchi J, Tanaka S, Nangaku M. Anti-inflammatory role of DPP-4 inhibitors in a nondiabetic model of glomerular injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2015 Apr 15;308(8):F878-87. doi: 10.1152/ajprenal.00590.2014

Tanaka S, Tanaka T, Nangaku M. Hypoxia and Dysregulated Angiogenesis in Kidney Disease. *Kidney Dis (Basel)*. 2015 May;1(1):80-9. doi: 10.1159/000381515

Mimura I, Tanaka T, Nangaku M. New insights into molecular mechanisms of epigenetic regulation in kidney disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2016 Dec;43(12):1159-1167

Mimura I, Hirakawa Y, Kanki Y, Kushida N, Nakaki R, Suzuki Y, Tanaka T, Aburatani H, Nangaku M. Novel lnc RNA regulated by HIF-1 inhibits apoptotic cell death in the renal tubular epithelial cells under hypoxia. *Physiol Rep*. 2017 Apr;5(8). pii: e13203. doi: 10.14814/phy2.13203.

Nangaku M, Hirakawa Y, Mimura I, Inagi R, Tanaka T. Epigenetic Changes in the Acute Kidney Injury-to-Chronic Kidney Disease Transition. *Nephron*. 2017;137(4):256-259. doi: 10.1159/000476078.

Yamaguchi J, Tanaka T, Saito H, Nomura S, Aburatani H, Waki H, Kadowaki T, Nangaku M. Echinomycin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 cells in a HIF-independent manner. *Sci Rep*. 2017 Jul 26;7(1):6516. doi: 10.1038/s41598-017-06761-4.

Sugahara M, Tanaka T, Nangaku M. Prolyl hydroxylase domain inhibitors as a novel therapeutic approach against anemia in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2017 Aug;92(2):306-312. doi: 10.1016/j.kint.2017.02.035

Tanaka S, Tanaka T, Kawakami T, Takano H, Sugahara M, Saito H, Higashijima Y, Yamaguchi J, Inagi R, Nangaku M. Vascular adhesion protein-1 enhances neutrophil infiltration by generation of hydrogen peroxide in renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int*. 2017 Jul;92(1):154-164. doi: 10.1016/j.kint.2017.01.014

Mimura I, Hirakawa Y, Kanki Y, Nakaki R, Suzuki Y, Tanaka T, Aburatani H, Nangaku M. Genome-wide analysis revealed that DZNep reduces tubulointerstitial fibrosis via down-regulation of pro-fibrotic genes. Sci Rep. 2018 Feb 28;8(1):3779. doi: 10.1038/s41598-018-22180-5.

Hirakawa Y, Mizukami K, Yoshihara T, Takahashi I, Khulan P, Honda T, Mimura I, Tanaka T, Tobita S, Nangaku M. Intravital phosphorescence lifetime imaging of the renal cortex accurately measures renal hypoxia. Kidney Int. 2018 Mar 30. pii: S0085-2538(18)30105-4

[学会発表](計15件)

Nangaku M. Development of novel drugs targeting CKD: hypoxia, oxidative stress, and epigenetics. 52<sup>nd</sup> European Renal Association/European Dialysis and Transplantation Association in UK, 2015. 5.30

Nangaku M. AKI-to-CKD: epidemiology and pathogenesis. International AKI-CRRT Forum in China, 2015.7.4

Nangaku M. Oxidative Stress and Kidney Injury. The 49<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Society of Nephrology in U.S.A., 2015.11.6

Nangaku M. Hypoxia and persistent inflammation in CKD XVIII International Congress on Nutrition and Metabolism in Renal Disease in Japan, 2016.4.22

Nangaku M. Development of novel drugs targeting renal hypoxia and anaemia. 53<sup>rd</sup> ERA/EDTA congress in Austria, 2016.5.24

Nangaku M. Epigenetics of Renal Disease. ANZSN in Australia, 2016.9.20

Nangaku M. Hypoxia-inducible factors in diabetic nephropathy. ASN 11/19

Nangaku M. Epigenetics and AKI-CKD transition. 22<sup>nd</sup> International Conference on Advances in Critical Care: AKI & CRRT 2017 in U.S.A, 2017.3.7

Nangaku M. The role of HIF stabilizer in renal fibrosis. The 37<sup>th</sup> Annual Meeting of the Korean Society of Nephrology in Korea, 2017.5.19

Nangaku M. Metabolic memory and hypoxic memory: epigenetics in diabetic nephropathy. 53<sup>rd</sup> ANZSN in Australia, 2017.9.3

Nangaku M. Management of diabetic complications: from diabetic nephropathy to diabetic kidney disease. Chinese Society of Nephrology, 2017.9.15

Nangaku M. Anemia in CKD. Hong Kong Society of Nephrology, 2017.9.30

Nangaku M. Anemia in CKD. Vietnam Society of Nephrology, 2017.11.18

Nangaku M. Update of anemia management in CKD patients. 2<sup>nd</sup> International Congress of Chinese Nephrologists in Taiwan, 2019.12.10

Nangaku M. Epigenetic change in progression of AKI to CKD. 16<sup>th</sup> Asian Pacific Congress of Nephrology in China, 2019.3.29

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

南学 正臣 (NANGAKU, Masaomi)  
東京大学・医学部附属病院・教授  
研究者番号：90311620

### (2)研究分担者

稲城 玲子 (INAGI, Reiko)  
東京大学・医学部附属病院・特任准教授  
研究者番号：50232509

田中 哲洋 (TANAKA, Tetsuhiro)  
東京大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：90508079

加藤 秀樹 (KATO, Hideki)  
東京大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：90625237

川上 貴久 (KAWAKAMI, Takahisa)  
東京大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：90508079

### (3)連携研究者

### (4)研究協力者