

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17291

研究課題名（和文）急性腎障害におけるDNA修復因子を介したアニオントランスポーター制御機構の解明

研究課題名（英文）Regulatory mechanism of anion transporter mediated by DNA repair factor in acute kidney injury

研究代表者

菱川 彰人（HISHIKAWA, Akihito）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：50867489

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）：近年、連続した2回目の急性腎障害（AKI）は1回目より腎障害が軽減されるというプレコンディショニング効果が報告されているが、DNA損傷修復との関連は明らかではなかった。本研究ではAKIおよびそのプレコンディショニング効果とDNA損傷修復との関連について、尿細管細胞におけるDNA修復因子KAT5を中心に解析を行ない、KAT5がClチャンネルKCC3発現調節を介してAKIのプレコンディショニング効果に關与する可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性腎障害（AKI）発症後に腎機能が回復しても、その後に慢性腎臓病（CKD）に移行するリスクが高いことから、AKIの予防・治療は非常に重要である。また、連続した2回目のAKIは1回目より腎障害が軽減されるというプレコンディショニング効果の存在も古くから指摘されているが、その分子基盤は不明であった。本研究ではAKIおよびそのプレコンディショニング効果とDNA損傷修復との関連について、尿細管細胞におけるDNA修復因子KAT5を中心に解析を行ない、KAT5がClチャンネルKCC3発現調節を介してAKIのプレコンディショニング効果に關与する可能性を見出した。

研究成果の概要（英文）：The "preconditioning effect" in AKI is a phenomenon in which an episode of ischemia-reperfusion results in tolerance to subsequent ischemia-reperfusion injury. However, its relationship between DNA damage repair has not been elucidated. In this study, we found that KAT5 may be involved in the preconditioning effect of AKI via regulation of Cl channel KCC3 expression.

研究分野：腎臓内科

キーワード：急性腎障害（AKI） DNA損傷 プレコンディショニング効果 エピゲノム 尿細管系球体フィードバック

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 (CKD) 患者数は世界的に増加傾向にあり、有病率は 10% を超え、年間約 100 万人の死亡原因となっている。一方、急性腎障害 (AKI) も増加傾向にあり、米国ではこの 10 年で 2 倍以上に増加している。更に AKI 発症後に腎機能が回復しても、その後 CKD に移行するリスクが高いことから、AKI の治療は急性期における生命予後改善のみならず、CKD 移行の予防・管理という点においても非常に重要である。この AKI が CKD 発症リスクを上昇させる効果は「AKI メモリー」と言われ、エピゲノム変化の関与が示唆されている。また逆に、連続した 2 回目の AKI は 1 回目より腎障害が軽減されるというプレコンディショニング効果の存在も古くから指摘されており、こちらも AKI メモリーと言われるがその分子基盤は明らかでない。

申請者は最近、腎系球体ポドサイトにおいて DNA 二本鎖切断 (DSB) 修復因子 KAT5 の発現低下が DNA 損傷修復不全に関連する DNA メチル化変化を惹起する可能性を報告した (Hishikawa et al. *Cell Rep*, 2019)。AKI では DNA 損傷が惹起されると報告されており、AKI における DNA 修復因子 KAT5 の意義をマウス虚血再灌流 (IR) モデルを用いて検討した。その結果、1 回目の IR により KAT5 発現は上昇し、1 週間経過後施行した 2 回目の IR 後には更に発現上昇を認めたが、4 週以上経過後 2 回目の IR を施行した際には発現上昇が認められなかったことから、KAT5 がプレコンディショニング効果に関わっているのではないかと考えた。

2. 研究の目的

AKI における系球体濾過量 (GFR) の低下には、系球体尿細管フィードバック (Tubuloglomerular feedback, TGF) が重要な役割を果たすと言われている。すなわち近位尿細管障害・脱落により Cl⁻ の再吸収が低下するため遠位ネフロンに達する Cl⁻ が増加し TGF が作用して GFR が低下するというものである。近位尿細管には種々の Cl⁻ イオン輸送チャネルが発現しているが、予備検討結果から KAT5 が Cl⁻ 輸送チャネルを調節している可能性が分かった。更に最近 DNA 修復因子欠損が髄質嚢胞性腎疾患の原因であると報告されており、マウスモデルにおいて DNA 修復因子欠損により炎症経路およびアニオントランスポーター経路の変動が指摘されている (Kidney Int, 2019)。

本研究では、尿細管の重要な機能であるアニオン輸送経路が DNA 修復経路と共通経路・因子を有して細胞機能維持に寄与しており、更に AKI メモリー効果発揮に関与している可能性があると考え、DNA 損傷修復とアニオントランスポーター制御機構をつなぐ因子として DNA 修復因子 KAT5 に注目し、AKI メモリー効果の分子機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

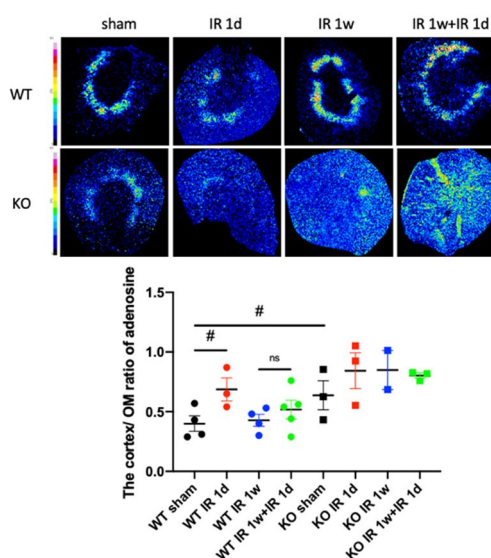
本研究では、野生型 (WT)、近位尿細管特異的 KAT5 ノックアウトマウス (KO) での両側腎虚血再灌流 (IR) モデルを作成し、プレコンディショニング (PC: 1 週間前の IR) の有無で DNA 損傷および Cl⁻ イオン輸送チャネルの変動を検討した。また、ヒト AKI の腎生検検体における DNA 損傷、Cl⁻ イオン輸送チャネルの発現を検討した。更にヒト培養尿細管細胞 (HK2 細胞) を用いた検討で、KAT5 が Cl⁻ イオン輸送チャネルの発現調整にどのように関連しているのか明らかにした。

4. 研究成果

野生型 (WT)、近位尿細管特異的 KAT5 ノックアウトマウス (KO) での両側腎虚血再灌流 (IR) モデルを作成し、プレコンディショニング (PC: 1 週間前の IR) の有無で比較した。その結果、WT では IR により腎皮質の DNA 二本鎖切断 (DSB) マーカー H2AX、KAT5 が増加するとともに、近位尿細管 Cl⁻ チャネル KCC3 が低下、尿中アデノシンが増加し尿細管系球体フィードバック (TGF) が示唆された。IR 施行後 1 週間再度 IR を施行した場合、初回 IR に比べて UN, Cr 上昇は抑制された (プレコンディショニング効果)。PC (+) 群では PC (-) 群と比較し、腎皮質の KAT5 発現が増加、KCC3 低下が抑制され、尿中アデノシンは減少し TGF 抑制が示唆された。また近位尿細管特異的 KAT5 ノックアウトマウスでは KCC3 発現が低下し、PC 効果も減弱した。質量分析イメージング (MALDI-IMS) を用いた検討においても TGF 亢進を示唆するアデノシン (*m/z* 268.104) の皮質集積は、WT では IR に伴い亢進し、PC でその集積が減弱したが、KO では WT と比較し亢進し、PC による有意な分布変動を認めなかった (図 1)。

したがって、KAT5 を介した TGF 減弱の PC 効果への関与が示唆された (2020 年 8 月 日本腎臓学

図 1



会学術総会「優秀演題賞」)

そして、ヒト腎生検検体では、AKI 症例で DSB マーカー γ H2AX が亢進し KCC3 発現が低下するとともに、eGFR が KCC3 発現と正の相関・ γ H2AX と KCC3 発現が負の相関を認めた (図 2)。

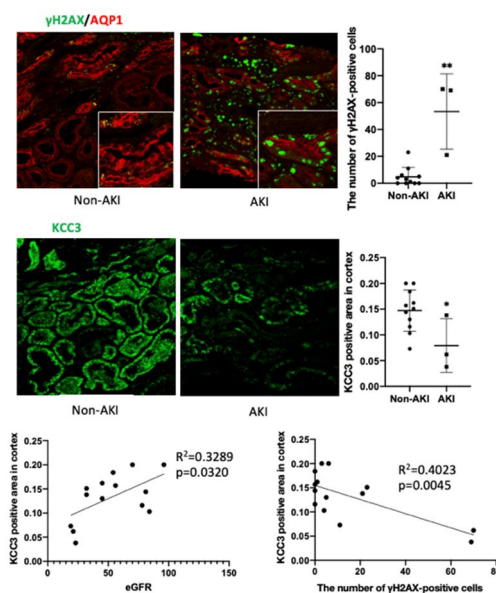
さらに、Antimycin A 投与によりヒト培養尿細管細胞 (HK2 細胞) に障害を惹起した結果、2 回目の投与では 1 回目に比して KAT5、KCC3 が増加、KCC3 プロモーター領域のクロマチンアクセシビリティ上昇、ChIP 解析で同部位の KAT5 結合が増加した。

以上の結果より、KAT5 は AKI に伴う DNA 修復に加え、KCC3 発現のエピゲノム調節を介した糸球体濾過量調節に関与している可能性が示唆された。

本研究の成果に基づき、KAT5 あるいはアニオントランスポーターをターゲットとした AKI の予防や治療法・CKD 進展の予防法が確立されればその臨床的意義は非常に大きいと考える。

これらの成果を、*iScience* 誌にて報告した。

図 2



5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Hishikawa Akihito, Hayashi Kaori, Kubo Akiko, Miyashita Kazutoshi, Hashiguchi Akinori, Kinouchi Kenichiro, Yoshimoto Norifumi, Nakamichi Ran, Akashio Riki, Sugita Erina, Azegami Tatsuhiko, Monkawa Toshiaki, Suematsu Makoto, Itoh Hiroshi	4. 巻 24
2. 論文標題 DNA repair factor KAT5 prevents ischemic acute kidney injury through glomerular filtration regulation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103436 - 103436
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.103436	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 菱川彰人
2. 発表標題 腎臓病におけるDNA損傷修復とDNA メチル化の意義について
3. 学会等名 第64回日本腎臓学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菱川彰人、林香、久保亜紀子、宮下和季、橋口明典、吉本憲史、中道蘭、杉田 絵里那、赤塩理起、門川俊明、末松誠、伊藤裕
2. 発表標題 DNA修復因子KAT5を介した尿細管糸球体 フィードバック制御
3. 学会等名 第64回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菱川彰人、林香、吉本憲史、中道蘭、門川俊明、伊藤裕
2. 発表標題 AKIプレコンディショニング効果におけるDNA修復因子KAT5の役割の検討
3. 学会等名 日本腎臓学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akihito Hishikawa, Kaori Hayashi, Toshiaki Monkawa, Hiroshi Itoh
2. 発表標題 DNA repair factor KAT5 acts against ischemia-reperfusion injury through promoted DNA repair and KCC3-dependent TGF regulation in proximal tubular cells
3. 学会等名 ASN kidney week 2020
4. 発表年 2020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
---------	---------