

平成 30 年 10 月 22 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09695

研究課題名(和文) マイクロRNAに着目したIgA腎症病態生理に基づく疾患特異的治療の開発

研究課題名(英文) Development of disease specific therapy based on pathophysiology of IgA nephropathy focusing on microRNA

研究代表者

吉川 徳茂 (Yoshikawa, Norishige)

和歌山県立医科大学・医学部・臨床研究センター長

研究者番号：10158412

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、IgA腎症の複数の基本的病態生理におけるマイクロRNA(miRNA)の関与とその機序を解明である。凍結保存されている腎生検検体からmicro RNAを抽出し、マイクロアレイを実施した。その解析の結果、2つのmicro RNAが、重症IgA腎症の検体で有意に減少していた。また、1つのmicro RNAが、重症IgA腎症の検体で有意に増加していた。その他のmicro RNAも、重症IgA腎症と微小糸球体変化で差を認めた。また尿検体の解析結果からmicro RNAは、非侵襲的に予後を予測するバイオマーカーとして利用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to show the involvement and mechanism of microRNA(miRNA) in pathophysiology of IgA nephropathy. Micro RNA was extracted from a cryopreserved kidney biopsy specimen and microarray was performed. Two microRNAs were significantly decreased in the specimens of severe IgA nephropathy. In addition, one microRNA was significantly increased in severe IgA nephropathy specimens. Other microRNAs also showed a difference in severe IgA nephropathy and minimal changes. From the analysis of urine specimens, micro RNA may be used as a biomarker for noninvasively predicting prognosis.

研究分野：小児腎臓病学

キーワード：IgA腎症

1. 研究開始当初の背景

IgA 腎症においては、近年、1) 糖鎖異常 IgA 1 の産生、2) その異常 IgA1 を含む免疫複合体のメサンギウムへの沈着、3) それによって惹起される慢性炎症(糸球体硬化)、4) さらに、それに引き続く間質の線維化、により末期腎不全に進行することが知られている(J Am Soc Nephrol 2011;22:1795-803)。しかし、個々の病態における詳細については不明な部分が多い。また、個々の病態における miRNA の関与について、腎生検検体や末梢血での検討で IgA 腎症との関与が示唆される miRNA が同定されているが(Nat Rev Nephrol 2014;10:249-56)、十分検討されているとは言えず、validation を含めた検討が今後の重要課題である(Nat Rev Nephrol 2014;10:249-56)。さらに、小児においては全く検討されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、IgA 腎症の複数の基本的病態生理におけるマイクロRNA (miRNA) の関与とその機序を解明し、それらを修飾することによる病態生理に基づいた疾患特異的治療開発のための基礎的知見の獲得である。

3. 研究の方法

(1) IgA 腎症の基本病態への関与が推測される miRNA の発現を腎生検検体と対照と比較し、増減を確認する。
(2) 腎生検検体のみで解析が不十分な場合、尿における解析も検討する。
(3) 基本実験手技は以下に示す。miRNA 定量: miRNA 最適化リアルタイムPCR。

4. 研究成果

(1) 腎生検検体

重症 IgA 腎症、微小糸球体変化の凍結保存されている腎生検検体から micro RNA を抽出し、マイクロアレイを実施した。その解析の結果、hsa-miR-144a-3p、hsa-miR-451a の 2 つの micro RNA が、重症 IgA 腎症の検体で有意に減少していた。また、hsa-miR-491-3p は、重症 IgA 腎症

の検体で有意に増加していた。その他、hsa-miR-6872-3p、hsa-miR-7641、hsa-miR-4732-5p も、重症 IgA 腎症と微小糸球体変化で差を認めた。

(2) 尿検体

miR-491-3p は、重症 IgA 腎症患者 5 人のうち 2 人で、軽症 IgA 腎症患者 14 人のうち 6 人で、対象患者 5 人のうち 1 人で、発現が感度以下であった。miR-4732-5p は、全患者で発現が見られた。miR-491-3p は、重症 IgA 腎症より健常者で 4 倍以上の発現が見られた。miR-4732-5p は、重症 IgA 腎症で発現が低下しており、軽症 IgA 腎症と対象で上昇傾向が見られた。

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 17 件)

1. Kikunaga K, Ishikura K, Terano C, Sato M, Komaki F, Hamasaki Y, Sasaki S, Iijima K, Yoshikawa N, Nakanishi K, Nakazato H, Matsuyama T, Ando T, Ito S, Honda M, High incidence of idiopathic nephrotic syndrome in East Asian children: a nationwide survey in Japan (JP-SHINE study), Clin Exp Nephrol, 査読有、21 巻、2017, 651 - 657

DOI: 10.1007/s10157-016-1319-z

2. Ninchoji T, Nozu K, Nakanishi K, Horinouchi T, Fujimura J, Yamamura T, Minamikawa S, Ishimori S, Nakanishi K, Yoshikawa N, Morioka I, Kaito H, Iijima K, Clinical characteristics and long-term outcome of diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome: a single center experience, Clin Exp Nephrol, 査読有、21 巻、2017, 889-894

DOI: 10.1007/s10157-016-1376-3

3. Yamamura T, Nozu K, Fu XJ, Nozu Y, Ye MJ, Shono A, Yamanouchi S, Minamikawa S, Morisada N, Nakanishi K, Shima Y, Yoshikawa N, Ninchoji T, Morioka I, Kaito H, Iijima

- K, Natural History and Genotype-Phenotype Correlation in Female X-Linked Alport Syndrome, *Kidney Int Rep*, 査読有, 4巻, 2017, 850-855
DOI: 10.1016/j.ekir.2017.04.011
4. Hama T, Nakanishi K, Sato M, Mukaiyama H, Togawa H, Shima Y, Miyajima M, Nozu K, Nagao S, Takahashi H, Sako M, Iijima K, Yoshikawa N, Suzuki H, Aberrant Smad3 phosphoisoforms in cyst-lining epithelial cells in the cpk mouse, a model of autosomal recessive polycystic kidney disease, *Am J Physiol Renal Physiol*, 査読有, 313巻, 2017, F1223-1231
5. Shima Y, Nakanishi K, Sato M, Hama T, Mukaiyama H, Togawa H, Tanaka R, Nozu K, Sako M, Iijima K, Suzuki H, Yoshikawa N, IgA nephropathy with presentation of nephrotic syndrome at onset in children, *Pediatr Nephrol*, 査読有, 32巻, 2017, 457-465
DOI: 10.1007/s00467-016-3502-6
6. Yoshizawa C, Kobayashi Y, Ikeuchi Y, Tashiro M, Kakegawa S, Watanabe T, Goto Y, Nakanishi K, Yoshikawa N, Arakawa H, Congenital nephrotic syndrome with a novel NPHS1 mutation, *Pediatr Int*, 査読有, 58巻, 2016, 1211-1215
DOI: 10.1007/s10157-016-1319-z
7. Kamiyoshi N, Nozu K, Fu XJ, Morisada N, Nozu Y, Ye MJ, Imafuku A, Miura K, Yamamura T, Minamikawa S, Shono A, Ninchoji T, Morioka I, Nakanishi K, Yoshikawa N, Kaito H, Iijima K, *Clin J Am Soc Nephrol*, 査読有, 8巻, 2016, 1441-9
DOI: 10.2215/CJN.01000116
8. Komatsu H, Fujimoto S, Yoshikawa N, Kitamura H, Sugiyama H, Yokoyama H, Clinical manifestations of Henoch-Schönlein purpura nephritis and IgA nephropathy: comparative analysis of data from the Japan Renal Biopsy Registry (J-RBR), *Clin Exp Nephrol*, 査読有, 8巻, 2016, 552-60
DOI: 10.1007/s10157-015-1177-0
9. Matsunoshita N, Nozu K, Shono A, Nozu Y, Fu XJ, Morisada N, Kamiyoshi N, Ohtsubo H, Ninchoji T, Minamikawa S, Yamamura T, Nakanishi K, Yoshikawa N, Shima Y, Kaito H, Iijima K, Differential diagnosis of Bartter syndrome, Gitelman syndrome, and pseudo-Bartter/Gitelman syndrome based on clinical characteristics, *Genet Med*, 査読有, 18巻, 2016, 180-8
DOI: 10.1038/gim.2015.56.
10. Fu XJ, Nozu K, Kaito H, Ninchoji T, Morisada N, Nakanishi K, Yoshikawa N, Ohtsubo H, Matsunoshita N, Kamiyoshi N, Matsumura C, Takagi N, Maekawa K, Taniguchi-Ikeda M, Iijima K, Somatic mosaicism and variant frequency detected by next-generation sequencing in X-linked Alport syndrome, *Eur J Hum Genet*, 査読有, 24巻, 2016, 387-91
DOI: 10.1038/ejhg.2015.113
11. Higa A, Shima Y, Hama T, Sato M, Mukaiyama H, Togawa H, Tanaka R, Nozu K, Sako M, Iijima K, Nakanishi K, Yoshikawa N, Long-term outcome of childhood IgA nephropathy with minimal proteinuria, *Pediatr Nephrol*, 査読有, 30巻, 2015, 555-66
DOI: 10.1007/s00467-015-3176-5.
12. Kamei K, Nakanishi K, Ito S, Ishikura K, Hataya H, Honda M, Nozu K, Iijima K, Shima Y, Yoshikawa N, Risk factors for persistent proteinuria after a 2-year combination therapy for severe childhood IgA Nephropathy, *Pediatr Nephrol*, 査読有, 30巻, 2015, 961-967
DOI: 10.1007/s00467-014-3019-9.
13. Ishikura K, Yoshikawa N, Nakazato H,

Sasaki S, Nakanishi K, Matsuyama T, Ito S, Hamasaki Y, Yata N, Ando T, Iijima K, Honda M, Morbidity in children with frequently relapsing nephrosis:10-year follow-up of a randomized controlled trial, *Pediatr Nephrol*, 査読有, 30巻, 2015, 459-468

DOI: 10.1007/s00467-014-2955-8.

14. Hama T, Nakanishi K, Shima Y, Sato M, Mukaiyama H, Togawa H, Hamahira K, Tanaka R, Kaito H, Nozu K, Iijima K, Yoshikawa N, Renal biopsy criterion in idiopathic nephrotic syndrome with microscopic hematuria at onset, *Pediatr Nephrol*, 査読有, 30巻, 2015, 445-450

DOI: 10.1007/s00467-014-2946-9.

15. Yoshikawa N, Nakanishi K, Sako M, S Oba M, Mori R, Ota E, Ishikura K, Hataya H, Honda M, Ito S, Shima Y, Kaito H, Nozu K, Nakamura H, Igarashi T, Ohashi Y, Iijima K, A multicenter randomized trial indicates initial prednisolone treatment for childhood nephrotic syndrome for two-months is not inferior to six-months treatment, *Kidney Int*, 査読有, 30巻, 2015, 225-232

DOI: 10.1038/ki.2014.260.

16. Shima Y, Nakanishi K, Hama T, Sato M, Mukaiyama H, Togawa H, Tanaka R, Kaito H, Nozu K, Iijima K, Yoshikawa N, Biopsy timing and Oxford classification variables in Childhood/Adolescent IgA nephropathy, *Pediatr Nephrol*, 査読有, 30巻, 2015, 293-299

DOI: 10.1007/s00467-014-2862-z.

〔学会発表〕(計 18 件)

シンポジウム

1. Yoshikawa N. Therapeutic options for IgA Nephropathy. 17th International Pediatric Nephrology Association, Iguac,

Brazil, 2016.9.20-24

2. Yoshikawa N. II-Soo Ha. Introduction of evidence-based treatments for childhood kidney disease. The The 11th Asian Society for Pediatric Research, Osaka, Japan, 2015.4.15-18

3. Nakanishi K, Yoshikawa N. Evidence-based treatments for childhood IgA nephropathy. The The 11th Asian Society for Pediatric Research, Osaka, Japan, 2015.4.15-18

一般演題

4. Minamikawa S, Nozu K, Fujimura J, Nakanishi K, Horinouchi T, Yamamura T, Ninchoji T, Kaito H, Yoshikawa N, Iijima K. A variety of phenotypes reflected by genotypes and laminin 2 expression on glomerulus in Pierson syndrome. 50th Anniversary Meeting of the European Society for Pediatric Nephrology, Glasgow, Scotland, 2017.9.6-9

5. Nakanishi K, Nozu K, Fujimura J, Horinouchi T, Minamikawa S, Yamamura T, Ninchoji T, Kaito H, Yoshikawa N, Iijima K. In vitro splicing assays to detect intronic pathogenic variants in inherited kidney disease. 50th Anniversary Meeting of the European Society for Pediatric Nephrology, Glasgow, Scotland, 2017.9.6-9.

6. Norishige Yoshikawa, Yuko Shima, Masashi Sato, Taketsugu Hama, Hironobu Mukaiyam, Hiroko Togawa, Hiroyuki Suzuki, Hiroshi Kaito, Kandai Nozu, Kazumoto Iijima, Koichi Nakanishi. New combination therapy with prednisolone (PSL), mizoribine and lisinopril for severe childhood IgA Nephropathy (IgAN). 50th anniversary meeting of the European

Society for Pediatric Nephrology 6-9 September, 2017 Glasgow, UK

7. Yuko Shima, Koichi Nakanishi, Masashi Sato, Taketsugu Hama, Hironobu Mukaiyama, Hiroko Togawa, Hiroyuki Suzuki, Norishige Yoshikawa. A case of childhood IgA Nephropathy with glomerular capillary IgA deposition. The 15th Japan-Korea-China Pediatric nephrology Seminar 2017 年 4 月 Tokyo

8. Yuko Shima, Koichi Nakanishi, Masashi Sato, Taketsugu Hama, Yu Tanaka, Hironobu Mukaiyama, Hiroko Togawa, Hiroshi Kaito, Kandai Nozu, Ryojiro Tanaka, Kazumoto Iijima, Hiroyuki Suzuki, Norishige Yoshikawa. Factors related to proteinuria relapse in childhood IgA Nephropathy, 50th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, November 2-5, 2017, New Orleans USA

9. Yamamura Y, Nozu K, Nakanishi K, Horinouchi T, Fujimura J, Minamikawa S, Kamiyoshi N, Ninchoji T, Kaito H, Morisada N, Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K. Genetic and clinical characteristics of female X-linked Alport syndrome : 267 cases study. 17th International Pediatric Nephrology Association, Iguac, Brazil, 2016.9.20-24

10. Minamikawa S, Nozu K, Nakanishi K, Yamamura T, Ninchoji T, Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K. Genetic approach to the siblings with congenital / infantile nephrotic syndrome by targeted resequencing. 17th International Pediatric Nephrology Association, Iguac, Brazil, 2016.9.20-24

10. Nakanishi K, Ninchoji T, Horinouchi T, Fujimura J, Yamamura T, Minamikawa S, Nozu K, Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K. Clinical characteristics and long term

outcome of diarrhea associated hemolytic uremic syndrome. 17th International Pediatric Nephrology Association, Iguac, Brazil, 2016.9.20-24

11. Shima Y, Nakanishi K, Sato M, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Suzuki H, Yoshikawa N. Crescentic IgA nephropathy in children. 17th International Pediatric Nephrology Association, Iguac, Brazil, 2016.9.20-24

12. Hashimura Y, Enomoto M, Onishi Y, Okizuka Y, Hayashi S, Uchiyama N, Yoshikawa N, Minami H. Immunoglobulin A nephropathy showing acute kidney injury and severe endocapillary proliferation. 17th International Pediatric Nephrology Association, Iguac, Brazil, 2016.9.20-24

13. Sato M, Nakanishi K, Hama T, Mukaiyama H, Togawa H, Yuko Shima¹, Miyajima M, Nozu K, Nagao S, Takahashi H, Iijima K, Yoshikawa N, Suzuki H: Differential expressions of miR-378a-3p/ADAMTS1 in *cpk* mice, a model of ARPKD. 49th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, November 15-20, 2016, Chicago, USA

14. Shima Y, Nakanishi K, Hama T, Sato M, Mukaiyama H, Togawa H, Kaito H, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Suzuki H, Yoshikawa N: Childhood IgA nephropathy presenting acute nephritic syndrome at onset. (Publication only) 49th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, November 15-20, 2016, Chicago, USA

15. Nozu K, Kamiyoshi N, Minamikawa S, Matsunoshita N, Otsubo H, Yamamura T, Ninchoji T, Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K. Genetic, pathological and clinical backgrounds in autosomal dominant Alport syndrome. 48th annual scientific meeting of the European Society for Pediatric Nephrology, September 3-5, 2015, Brussels, Belgium

16. Shima Y, Nakanishi K, Hama T, Sato M, Togawa H, Mukaiyama H, Kaito H, Nozu K,

Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. Childhood IgA nephropathy with nephrotic syndrome (NS-IgAN) at onset. 48th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, November 5-8,2015, San Diego, USA

17.Kamiyoshi N, Nozu K, Yamamura T, Ninchoji T, Shima Y, Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K. Somatic mosaicism and variant frequency detected by next-generation sequencing in X-linked Alport syndrome. 48th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, November 5-8,2015, San Diego, USA

18.Sato M, Nakanishi K, Hama T, Mukaiyama H, Togawa H, Shima Y, Miyajima M, Nozu K, Nagao S, Takahashi H, Iijima K, Yoshikawa N. Dysregulation of miR-378a-3p and ADAMTS1 gene in cpk mice, a model of ARPKD. (Publication only) 48th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, November 5-8,2015, San Diego, USA

〔図書〕(計1件)

1.Nakanishi K, Yoshikawa N. Immunoglobulin A nephropathies in children (Includes HSP). In “Pediatric Nephrology 7th edition” (Ed.) Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, Yoshikawa N, Emma F, Goldstein SL. Pp983-1033, Springer, Berlin Heidelberg, 2016

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉川徳茂 (YOSHIKAWA Norishige)
和歌山県立医科大学・臨床研究センター・
センター長・名誉教授
研究者番号：10158412

(2)研究分担者

中西浩一 (NAKANISHI Koichi)
琉球大学・医学研究科・教授
研究者番号：50336880

浜武継 (HAMA Takatsugu)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：00508020