

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16810

研究課題名(和文) オンコスタチンMの尿路結石の形成・消失における役割の解明

研究課題名(英文) The role of oncostatin M in urinary stone formation

研究代表者

山下 真平 (Yamashita, Shimpei)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：20725569

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：オンコスタチンM(OSM)は、IL-6ファミリーのサイトカインであり、肺や皮膚の慢性炎症や動脈硬化を促進する働きがあることが報告されている。我々は、OSMが腎においても炎症を惹起し、尿路結石形成を促す可能性があるという仮説を立てた。本研究は、尿路結石形成におけるOSMの役割を解明することを目的とした、マウスを用いた基礎研究である。

本研究の結果から、OSMは、近位尿細管上皮細胞や間質線維芽細胞に作用し、結晶結合蛋白や炎症性サイトカインの産生を促し、尿路結石形成を促進することが明らかとなった。本研究結果は、尿路結石形成機序の解明や新規分子標的治療薬の開発に貢献できるものと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

その高い有病率、及び再発率から、尿路結石の分子細胞生物学的な発生機序に基づく革新的な尿路結石治療法の確立が今後の課題である。

本研究の結果は、これまで知られていなかった尿路結石過程におけるOSMの働きを明らかにするものであり、学術的にも意義のある成果であると考えている。また、将来的に尿路結石形成機序の解明や新規分子標的治療薬の開発に貢献できる可能性があり、尿路結石に悩む患者が多いことから、社会的意義も非常に大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Oncostatin M (OSM), a member of the interleukin-6 family of cytokines, has been reported to promote chronic inflammation in lung and skin. We hypothesized that OSM plays an inflammatory role in kidney and promotes renal stone formation. The aim of this study was to elucidate the role of OSM in urinary stone formation.

The current study revealed that OSM stimulated renal proximal tubular epithelial cells and interstitial fibroblasts to produce crystal binding proteins and inflammatory cytokines and promoted urinary stone formation. We believe that the results of this study will contribute to the elucidation of the mechanism underlying urinary stone formation and the development of novel molecular targeted therapeutics.

研究分野：尿路結石症

キーワード：オンコスタチンM 尿路結石症

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

食生活や生活様式の欧米化、人口構成の高齢化などに伴い、本邦における尿路結石症の生涯罹患率は男性 15.1%、女性 6.8%と上昇傾向にある。また、その5年再発率は40-50%と高く、医療経済を圧迫する社会問題となっている。しかしながら、尿路結石の治療法は内服薬による排石促進や外科的治療による結石破砕が主である。申請者は尿路結石の分子細胞生物学的な発生機序に基づく革新的な尿路結石治療法の確立が今後の課題であると考えてきた。未だ尿路結石発症機序の詳細は明らかにはなっていないが、尿路結石形成には腎における炎症が重要なトリガーであることが知られている。一方で、IL-6ファミリーのサイトカインであるオンコスタチン M(OSM)も種々の炎症(皮膚や肺の慢性炎症や動脈硬化)を促進する作用を持つことから、我々は尿路結石と OSM の関連性に着目し、本研究を立案した。

2. 研究の目的

尿路結石の形成・消失過程における OSM の役割を明らかにすることにより、OSM の作用機序に着目した尿路結石発症メカニズムの解明、分子生物学的治療法の確立の基盤となる研究を行う。

3. 研究の方法

(方法1) 結石モデルマウスの腎組織における OSM/OSMR 遺伝子発現の検討

尿路結石モデルマウスとして、8週齢の野生型マウス(C57BL6J)にシュウ酸前駆物質である Glyoxylate を15日間連日腹腔内投与するモデルが用いられているが、このモデルでは、投与後3日目より腎臓内に結晶の沈着が認められ、6日目には結晶の沈着量が最大となり、その後徐々に消失して15日目には結晶の沈着が認められなくなることが報告されている(Okada et al., J Bone Miner Res 25: 2701-2711, 2010)。

本研究では、Glyoxylate 80mg/kg 投与後の各ステージ(0, 3, 6, 9, 12, 15日)において、OSM と OSMR の遺伝子発現をリアルタイム PCR 法にて検討する。

(方法2) OSMR 遺伝子欠損マウス(OSMR^{-/-}マウス)を用いた結石モデルの検討

OSMR により伝達されるシグナルが尿路結石の形成・消失に及ぼす影響を検討するために、8週齢の OSMR^{-/-}マウス、およびそのコントロールマウス(OSMR^{+/+}マウス)に Glyoxylate 80mg/kg を連日腹腔内投与し、Glyoxylate 投与後の各ステージにおける腎結晶形成量、結石形成関連遺伝子や炎症性サイトカインの発現量を比較・検討する。腎結晶形成量は腎臓の凍結切片を作製、Pizzolato 染色(シュウ酸カルシウム染色)を行い、腎断面におけるシュウ酸カルシウム結晶の面積の割合で結石形成量を評価する。結石形成関連遺伝子や炎症性サイトカインの遺伝子発現はリアルタイム PCR 法で検討する。

(方法3) OSM の尿細管上皮細胞、及び線維芽細胞における直接的な役割の検討 (in vitro)

OSMR は、結石モデルマウスの腎において、EpCAM 陽性の尿細管上皮細胞、及び PDGFR 陽性の間質線維芽細胞に発現していることが分かっている。そこで、結石モデルマウス(8週齢の野生型マウスにシュウ酸前駆物質であるグリオキシレート(GOx)を連日腹腔内投与するモデル)から、OSMR が発現している尿細管上皮細胞、及び線維芽細胞を分取・培養し、OSM 刺激による炎症性サイトカイン、及び結晶結合蛋白の発現量の変化について明らかにする。

4. 研究成果

(結果1)

8週齢の野生型マウスに Glyoxylate を連日腹腔内投与し、経時的に OSM および OSMR の発現を調べたところ、腎結晶沈着量の増加に伴って、それぞれ day6, day3 をピークに OSM、OSMR の発現は増加し、その後減少に転じることが分かった(図1)。本結果から、OSM が結石形成・消失過程において何らかの作用を有している可能性があることが示唆された。

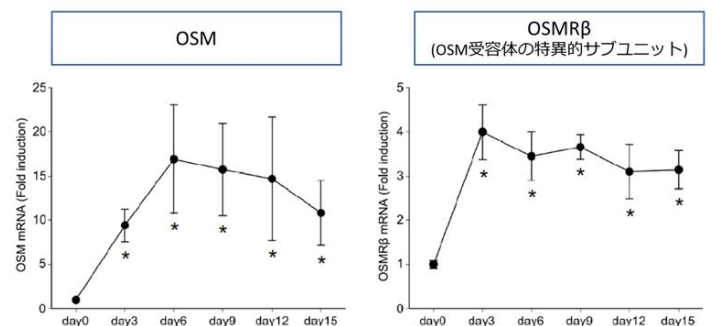


図1. 結石モデルマウスの腎組織におけるOSM/OSMRβ遺伝子発現

(結果2)

8週齢の OSMR^{-/-}マウス、およびそのコントロールマウス(OSMR^{+/+}マウス)に Glyoxylate 80mg/kg を連日腹腔内投与し、腎結晶形成量を経時的に比較したところ、コントロールマウスで結晶形成量がピークとなる day6 において、OSMR^{-/-}マウスでは有意に結晶形成量が減少していることがわかった(図2)。また、結石形成関連遺伝子や炎症性サイトカインの遺

伝子発現についても比較したところ、OSMR^{-/-}マウスではコントロールマウスに比べ、day3 および day6 において、OPN、ANXA1、ANXA2 といった結石形成関連遺伝子や、TNF- α 、IL-1 β といった炎症性サイトカインの遺伝子発現が有意に減少していることもわかった。これらの結果から、OSM は結石形成過程において、何らかの経路で結石形成関連遺伝子や炎症性サイトカインの発現を促進させ、その結果、結石形成を促進する役割を担っている可能性が示唆された。

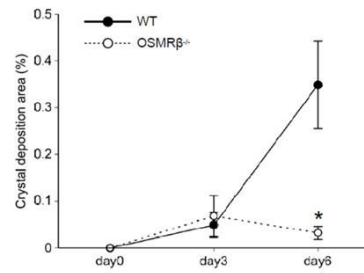


図2. シュウ酸カルシウム結晶形成量の比較

(結果3)

免疫組織学的染色を行ったところ、OSMR は、結石モデルマウスの腎において、EpCAM 陽性の尿細管上皮細胞、及び PDGFR 陽性の間質線維芽細胞に発現していることが分かった。そこで、結石モデルマウスから、OSMR が発現している近位尿細管上皮細胞を分取、培養し、OSM で刺激したところ、結晶結合蛋白の発現が上昇した。また、間質線維芽細胞を分取、培養し、OSM で刺激したところ、炎症性サイトカインの発現が上昇した。

以上の結果から、OSM は、近位尿細管上皮細胞や間質線維芽細胞に作用し、結晶結合蛋白や炎症性サイトカインの産生を促し、尿路結石形成を促進することが明らかとなった。本研究結果は、尿路結石形成機序の解明や新規分子標的治療薬の開発に貢献できるものと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 山下真平、小森忠祐、柑本康夫、朴 聖一、出口龍良、樋口雅俊、井口孝司、吉川和朗、森川吉博、原 勲
2. 発表標題 所属・施設を超えた尿路結石研究への挑戦 -つながりをもつことの重要性-
3. 学会等名 日本尿路結石症学会第29回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小森忠祐、山下真平、久岡朋子、柑本康夫、原 勲、森川吉博
2. 発表標題 尿路結石の形成におけるオンコスタチンMの役割の検討
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tadasuke Komori, Shimpei Yamashita, Yasuo Kohjimoto, Isao Hara, Yoshihiro Morikawa.
2. 発表標題 Functional roles of oncostatin M in the development of kidney stone disease in mice. A Keystone Symposium
3. 学会等名 Fibrosis and Tissue Repair: From Molecules and Mechanics to Therapeutic Approaches (国際学会)
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
---------------------------	-----------------------	----