

令和 4 年 3 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02822

研究課題名(和文)ミトコンドリア関連腎症の診断と治療法の開発

研究課題名(英文)Diagnosis and remedy for mitochondria-related nephropathy

研究代表者

阿部 高明 (Takaaki, Abe)

東北大学・医工学研究科・教授

研究者番号：80292209

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)：ミトコンドリア機能異常に伴う腎疾患(ミトコンドリア関連腎症)は多くの病態を惹起するが、その診断方法は酵素活性測定やミトコンドリア遺伝子の解析に限られ臨床レベルにない。また遺伝子診断が果たしたとしても特異的な治療薬は無く既存治療を行なうしかなかった。申請者は近年世界初・日本発の新規ミトコンドリア病治療薬MA-5を開発した。MA-5はAKIモデル、シスプラチンモデル等の動物モデルだけ無くミトコンドリア関連腎症であるAKIや虚血性腎症に用いる事が出来ると考えられる。さらに既存ミトコンドリア病診断マーカーとは異なる新しいマーカーを見だしミトコンドリア関連腎症修学的診断と治療システムの構築を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりミトコンドリア機能異常の診断が容易となり、患を早期に予見してその抑制・予防に利用される社会が実現される。またミトコンドリアと疾患の関連が明らかになり、AKI、シスプラチン腎症だけ無くミトコンドリア関連腎症であるAKIや虚血性腎症に用いる治療法の開発に役に立つと考えられた。

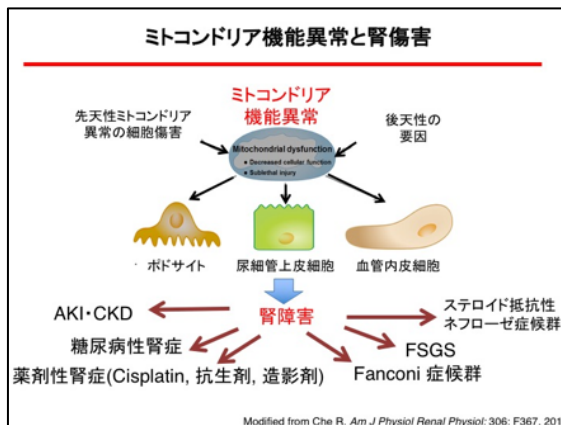
研究成果の概要(英文)：Mitochondrial disease is one kind of intractable disease for which the diagnosis is still complicated by the distinct lack of sensitive and specific biomarkers and remedies. We reported that a new indole-derivative drug, MA-5, improved the cardiac and renal respiration and prolonged survival in disease model mice carrying a deleted mitochondrial DNA mutation that makes it suitable for evaluating the phenotype of human mitochondrial diseases and renal diseases. In addition, mitochondrial disease is one kind of intractable disease for which the diagnosis is still complicated by the distinct lack of sensitive and specific biomarkers. We found the potential biomarkers for mitochondrial dysfunction to improve diagnoses and develop new medicines to ameliorate the mitochondrial diseases.

研究分野：腎臓内科

キーワード：ミトコンドリア関連腎症 MA-5 GDF15 PET

1. 研究開始当初の背景

腎臓は心筋と並んで組織重量あたりのミトコンドリア量が豊富な臓器で、各組部位におけるミトコンドリア機能異常や機能低下は様々な腎疾患を引き起こす事が報告されている。具体的には近位尿細管は虚血・低酸素、敗血症ショック、シスプラチンなどの腎毒性物質により容易にミトコンドリア機能不全と ATP 産生低下が起こり、AKI の原因部位であること、ポドサイトは細胞体及び足突起まで豊富なミトコンドリアを有しており先天的/後天的にミトコンドリア機能異常の病態を起こしやすく、また治療抵抗性ネフローゼ症候群 (SRNS) や家族性巣状糸球体硬化症 (FSGS) でミトコンドリア異常の関与が指摘されている事などが挙げられる。



この様にミトコンドリア機能異常と腎疾患は密接に関連するにも係わらずその“診断法”はミトコンドリア DNA の 16Kb 上の点変異を検出する方法あるいは腎生検サンプルを用いた電子顕微鏡による形態の検索などに限られる。また核側の DNA の異常については Whole exome シーケンス解析を研究レベルとする以外に方法はなく、イントロン変異については全く検出すら出来ない状況である。さらに仮に遺伝子異常が見つかったとしても現在ミトコンドリア機能異常によるミトコンドリア関連腎症に対する特異的な“治療法”はない。従って既存の RA 阻害薬や免疫抑制剤を使うほかは無く、特異的治療は“放置”されているに等しい。

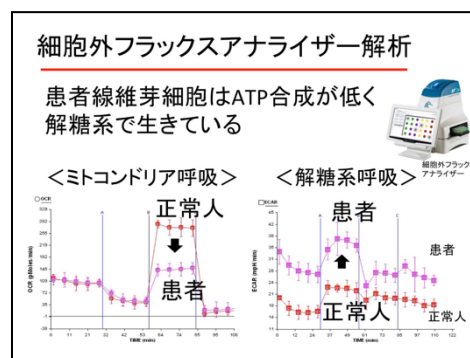
2. 研究の目的

そこで本研究では

- (1) 各種ミトコンドリア関連腎症の患者皮膚線維芽細胞を用いてそのミトコンドリア機能異常の詳細な検討を行いミトコンドリア病治療薬並びにその類縁化合物の有効性を検討する事、
- (2) 腎臓領域のミトコンドリア機能異常症の血液と皮膚線維芽細胞を用いたミトコンドリア腎症の新たな“診断システム”の開発を行う事、
- (3) MA-5 の結合蛋白質の結合様式の解明を行い ATP 合成メカニズムの基本原理の解明を行いミトコンドリア関連腎症の新規診断法と治療法を構築する事を目的とした。

3. 研究の方法

患者由来線維芽細胞では酸化的リン酸化に異常があり ATP 合成酵素のエネルギーとなる水素イオンが作られておらず、解糖系を活性化させて ATP 不足を補っていることが示唆された。またこれまでの方法では呼吸鎖複合体 (1 から IV) の機能を総合的に測定する事は出来なかった。近年我々は複合体 1 から IV を同時に検討するシステムを開発した(右図)。



そこで本研究ではこの複合解析システムを用いてミトコンドリア関連腎症のミトコンドリア機能を検討し原因を調べるとともに MA-5 の効果を検討した。

また近年ミトコンドリア病の診断に有用性が認められつつあるのが GDF-15 である。しかし前述のように GDF-15 は腎機能に影響されるので腎不全患者に応用する事は出来ない。

そこで我々は患者線維芽細胞のマイクロアレイ、患者細胞の蛋白解析、メタボローム解析、プロテオーム解析を行って、ミトコンドリア機能異常時に上昇し、GDF-15 と相関するが腎機能には相関しない新たなマーカーを探索した。

さらに MA-5 とその結合蛋白質の結合様式の解明を行うため生体分子間相互作用解析システム (Octet2) を用いてカイネティクスを検討した。

4. 研究成果

我々は今回 50 例の各種ミトコンドリア関連腎症の皮膚線維芽細胞を収集しと細胞外フラックスアナライザーを用いてミソの酸素呼吸能および解糖系の解析を行った。

患者由来線維芽細胞では酸化リン酸化に異常があり ATP 合成酵素のエネルギーとなる水素イオンが作られておらず、解糖系を活性化させて ATP 不足を補っていることが示唆された。

また線維芽細胞を用いて MA-5 により ATP の上昇、ミトコンドリアダイナミクスの改善、細胞保護作用等の有効性を確認した。MA-5 はミトコンドリアの蛋白質に結合して ATP 産生を増加させる全く新しい機序による治療薬であり、現在 2 件 (5ヶ国各国移行終了) の特許と 13 件の出願が完了した。MA-5 は 90 名のミトコンドリア病患者細胞の 95% に有効であり、ミトコンドリア病マーカー GDF-15 がその効果判定に有用であることが明らかになった。さらに FSGS やネフロン癆の患者皮膚細胞に異常ミトコンドリアを同定し、倫理委員会承認のもと細胞外フラックスアナライザーを用いてミトコンドリア機能異常と MA-5 の有効性を確認した。ミトコンドリア病およびミトコンドリア関連腎症は有効な治療法がないアンメットニーズの高い疾患であり、本薬の実用化による社会的・臨床的意義は極めて大きいと考えられた。

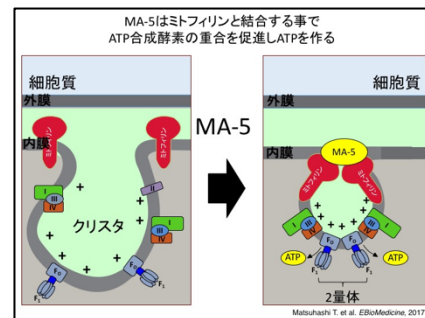
Case	Disease	Age	Cell ID	Gene mutation	Protein	Sensitivity for BSD	Effect of MA-5	GDF-15 (pg/ml)	FGF-21 (ng/ml)
1	Leigh	8	THK2	m.10191 T>C	ND3	(+)	(+)	1036.7	3006
2	Leigh	16	THK5	(-)	(-)	(+)	(+)		
3	Leigh	8	THK6	m.10191 T>C	ND3	(+)	(+)	2051.5	3341.8
4	Leigh	16	THK7	(-)	(-)	(+)	(+)	1012.4	732.8
5	Leigh	0	KCMC10	m.10158 T>C	ND3	(+)	(+)		
6	Leigh	2	KCMC17	c.387_388delAG	SURP1	(+)	(+)		
7	Leigh	0	KCMC14	m.893 T>G	ATPase8	(+)	(+)		
8	Leigh	7	KCMC19	c.26_26delAag	SURP1	(+)	(+)		
9	Leigh	5	ME54-1	c.55 C>T	NDUF51	(+)	(+)	671.2	149.2
10	Leigh	24	THK17	(-)	(-)	(+)	(+)	1033.7	1192.7
11	MELAS	14	KCMC9	m.3248 A>G	SRNA3L1	(+)	(+)		
12	MELAS	14	KCMC11	m.3243 A>T	SRNA3L1	(+)	(+)		
13	MELAS	13	KCMC12	m.886 G>A	SRNA3L1	(+)	(+)		
14	MELAS	06	THK12	m.3243 A>G	SRNA3L1	(+)	(+)	5005.7	1708.1
15	MELAS	20	THK28	m.3243 A>G	SRNA3L1	(+)	(+)	1020.7	781.8
16	MELAS	9	ME07-1	m.4462 G>A	SRNA3L1	(+)	(+)	784.3	251.8
17	LHON	18	THK9	m.11778 G>A	ND4	(+)	(+)	620.1	80.9
18	LHON	66	THK9	m.11778 G>A	ND4	(+)	(+)	2647	434.9
19	LHON	61	THK10	m.11778 G>A	ND4	(+)	(+)	1322.6	212.1
20	KSS	13	THK4	(-)	(-)	(+)	(+)	2900.2	2088.1
21	CPED	15	THK23	(-)	(-)	(+)	(+)	2461.2	791.8
22	COX	73	THK14	c.1377_1381delTTCTAA	p.A4449Metfs	(+)	(+)	1312.2	211.8
23	Unclassified	13	THK1	(-)	(-)	(+)	(+)	4812	789.8
24	Unclassified	3	THK3	(-)	(-)	(+)	(+)	1071.4	66.5
25	Unclassified	64	THK11	(-)	(-)	(+)	(+)	4428	386.4
健康人	Normal	9	THK0	(-)	(-)	(+)	(+)		

さらに我々はミトコンドリア内膜とクリスタ構造を形成するクリスタジャンクションに存在するミトフィリンを MA-5 の結合蛋白質として同定した。

そこでリコンビナントミトフィリンを作製して MA-5 と結合する事をピアコアを用いた SPR で確認した。さらに MA-5 とその結合蛋白質の結合様式の解明を行うため生体分子間相互作用解析システム (Ooctet2) を用いてカインेटクスを検討した。

植物においてはインドールは核内受容体 TIR を介して成長を促す。しかし動物細胞には TIR は存在しない。

今回ミトコンドリア内のミトフィリンがインドール化合物と結合する事が分かった。ミトフィリンはミトコンドリアの祖先と呼ばれるアルファプロバクテリウムから哺乳類まで保存されていることから、その祖先の同一性とリガンドの共通性が示唆され、生命の進化を検討する上でも重要な分子である事が明らかになった。



ミトコンドリア診断マーカーとして近年ミトコンドリア病の診断に有用性が認められつつあるものが血中”GDF-15”である。我々は 25 名のミトコンドリア病患者の血清中の GDF-15 値が正常群と比較して有意に上昇していること、またミトコンドリア病モデルマウスであるミトマウスの GDF-15 値が高く MA-5 投与によりその値を有意に下げたことから GDF-15 は *in vitro* と *in vivo* の両方で有用性を確認した。しかし GDF-15 を腎不全患者に応用する事は出来ない。



その理由として GDF-15 はクリアランスの問題から腎機能が悪化すると正の相関を持って上昇するためである (右図)。従って腎機能に左右されない新たなミトコンドリアマーカーが必要とされていた。そこで我々は患者線維芽細胞のマイクロアレイを行って、ミトコンドリア機能異常時に上昇し、GDF-15 とも相関かつ腎機能に相関しない新たなマーカーを単離した。このマーカーは若年者の腎血管性高血圧の原因である繊維筋性異形性のような腎硬化症とは異なる急性虚血時とその解除によって著明に変化することが明らかとなった。このマーカーを用いると腎機能に依存しない腎疾患のミトコンドリア機能を評価する事が出来る。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Mishima Eikan, Sato Emiko, Ito Junya, Yamada Ken-ichi, Suzuki Chitose, Oikawa Yoshitsugu, Matsuhashi Tetsuro, Kikuchi Koichi, Toyohara Takafumi, Suzuki Takehiro, Ito Sadayoshi, Nakagawa Kiyotaka, Abe Takaaki	4. 巻 31
2. 論文標題 Drugs Repurposed as Antiferroptosis Agents Suppress Organ Damage, Including AKI, by Functioning as Lipid Peroxyl Radical Scavengers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Society of Nephrology	6. 最初と最後の頁 280 ~ 296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1681/ASN.2019060570	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Akiyama Yasutoshi, Kharel Prakash, Abe Takaaki, Anderson Paul, Ivanov Pavel	4. 巻 17
2. 論文標題 Isolation and initial structure-functional characterization of endogenous tRNA-derived stress-induced RNAs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RNA Biology	6. 最初と最後の頁 1116 ~ 1124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15476286.2020.1732702	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Toyohara Takafumi, Roudnicky Filip, Florido Mary H.C., Nakano Toshiaki, Yu Haojie, Katsuki Shunsuke, Lee Minjin, Meissner Torsten, Friesen Max, Davidow Lance S., Ptaszek Leon, Abe Takaaki, Rubin Lee L., Pereira Alexandre C., Aikawa Masanori, Cowan Chad A.	4. 巻 27
2. 論文標題 Patient hiPSCs Identify Vascular Smooth Muscle Arylacetamide Deacetylase as Protective against Atherosclerosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Stem Cell	6. 最初と最後の頁 147 ~ 157.e7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stem.2020.04.018	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Mishima Eikan, Ichijo Mariko, Kawabe Takeshi, Kikuchi Koichi, Akiyama Yukako, Toyohara Takafumi, Suzuki Takehiro, Suzuki Chitose, Asao Atsuko, Ishii Naoto, Fukuda Shinji, Abe Takaaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Germ-Free Conditions Modulate Host Purine Metabolism, Exacerbating Adenine-Induced Kidney Damage	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Toxins	6. 最初と最後の頁 547 ~ 547
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/toxins12090547	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Oikawa Y., Izumi R., Koide M., Hagiwara Y., Kanzaki M., Suzuki N., Kikuchi K., Matsushashi T., Akiyama Y., Ichijo M., Watanabe S., Toyohara T., Suzuki T., Mishima E., Akiyama Y., Ogata Y., Suzuki C., Hayashi H., Kodama EN, Hayashi KI, Itoi E., Aoki M., Kure S and Abe T.	4. 巻 15
2. 論文標題 Mitochondrial dysfunction underlying sporadic inclusion body myositis is ameliorated by the mitochondrial homing drug MA-5	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 1~21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0231064	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Kikuchi K, Abe T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Gut microbiome-derived phenyl sulfate contributes to albuminuria in diabetic kidney disease.Nat Commun	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-09735-4	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 該当する

1. 著者名 Kanehara K, Ohnuma S, Kanazawa Y, Sato K, Kokubo S, Suzuki H, Karasawa H, Suzuki T, Suzuki C, Naitoh T, Unno M, Abe T.	4. 巻 9
2. 論文標題 The indole compound MA-35 attenuates tumorigenesis in an inflammation-induced colon cancer model.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-48974-9	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 -

1. 著者名 Kanemitsu Y, Mishima E, Maekawa M, Matsumoto Y, Saigusa D, Yamaguchi H, Ogura J, Tsukamoto H, Tomioka Y, Abe T, Mano N.	4. 巻 13
2. 論文標題 Comprehensive and semi-quantitative analysis of carboxyl-containing metabolites related to gut microbiota on chronic kidney disease using 2-picolylamine isotopic labeling LC-MS/MS.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-55600-1	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 -

1. 著者名 Mishima E, Abe T.	4. 巻 1870
2. 論文標題 Immuno-Northern Blotting: Detection of Modified RNA Using Gel Separation and Antibodies to Modified Nucleosides.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 179-187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8808-2_13.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Miyachi A, Kouga T, Jimbo EF, Matsuhashi T, Abe T, Yamagata T, Osaka H.	4. 巻 49
2. 論文標題 Apomorphine rescues reactive oxygen species-induced apoptosis of fibroblasts with mitochondrial disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mitochondrion	6. 最初と最後の頁 111-120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mito.2019.07.006	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Mishima E, Fukuda S, Kanemitsu Y, Saigusa D, Mukawa C, Asaji K, Matsumoto Y, Tsukamoto H, Tachikawa T, Tsukimi T, Fukuda NN, Ho HJ, Kikuchi K, Suzuki C, Nanto F, Suzuki T, Ito S, Soga T, Tomioka Y, Abe T.	4. 巻 315
2. 論文標題 Canagliflozin reduces plasma uremic toxins and alters the intestinal microbiota composition in a chronic kidney disease mouse model.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Physiol Renal Physiol.	6. 最初と最後の頁 F824-F833
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajprenal.00314.2017	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Narumi K, Mishima E, Akiyama Y, Matsuhashi T, Nakamichi T, Kisu K, Nishiyama S, Ikenouchi H, Kikuchi A, Izumi R, Miyazaki M, Abe T, Sato H, Ito S.	4. 巻 138
2. 論文標題 Focal Segmental Glomerulosclerosis Associated with Chronic Progressive External Ophthalmoplegia and Mitochondrial DNA A3243G Mutation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nephron	6. 最初と最後の頁 243-248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000485109	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Suzuki T, Abe T.	4. 巻 94
2. 論文標題 Crossroads of metabolism and CKD.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Kidney Int.	6. 最初と最後の頁 242-243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.kint.2018.03.023	査読の有無 有
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10件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 阿部高明
2. 発表標題 糖尿病性腎症と腸内細菌
3. 学会等名 第52回九州人工透析研究会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 阿部高明
2. 発表標題 ミトコンドリア病に対するATP産生促進剤・MA-5の可能性
3. 学会等名 第54回日本小児腎臓病学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 阿部高明
2. 発表標題 新規ミトコンドリア病治療薬MA-5
3. 学会等名 第26回日本小児高血圧研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 阿部高明
2. 発表標題 腸管産生尿毒素の腎尿管輸送とCKD
3. 学会等名 第50回日本消化吸収学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 阿部高明
2. 発表標題 細胞ストレスから見た腎障害の分子機構
3. 学会等名 第53回糖尿病学の進歩（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takaaki ABE
2. 発表標題 Gut microbiota and chronic kidney diseases
3. 学会等名 20th Human Genome Meeting 2018（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阿部高明
2. 発表標題 胞ストレスから見た腎障害の分子機構
3. 学会等名 第91日本内分泌学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阿部高明
2. 発表標題 高血圧とその合併症発症における多臓器連関
3. 学会等名 第41回高血圧学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阿部高明
2. 発表標題 ミトコンドリアと皮膚疾患
3. 学会等名 第34回日本臨床皮膚科医会総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阿部高明
2. 発表標題 腸腎連関
3. 学会等名 第8回日本腎臓リハビリテーション学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 がんの予防又は治療剤	発明者 阿部高明、海野倫明、大沼忍、林謙一郎	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、出願中	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------