

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08229

研究課題名(和文)腎疾患での尿microRNAの発現調節機序とバイオマーカーとしての有用性の検討

研究課題名(英文) Regulation of urinary microRNA expression in renal diseases and its utility as a biomarker

研究代表者

今田 恒夫 (Konta, Tsuneo)

山形大学・医学部・教授

研究者番号：60333952

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、健常者・腎疾患患者計150名の血中尿中microRNAを解析し、糸球体、尿細管、間質の各細胞に様々なmicroRNAが発現する、腎組織と尿のmicroRNA発現は相関する、腎病変の種類により尿microRNA発現プロファイルが異なる、特定の尿中microRNAは腎機能低下と関連する、などを明らかにした。

これらの結果から、様々なmicroRNAが腎疾患の発症や進行と関連し、尿microRNAは腎組織microRNA発現や腎障害の病態を反映する可能性があること、尿microRNAは腎疾患の予後を予測する指標となりうることを示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、尿microRNAは腎臓病の予後を予測する指標となりうることを示唆された。腎臓病は心臓病や脳卒中との関連が強いことから、microRNAと各疾患との関連についての検討をさらに進めることで、microRNAを対象とした幅広い疾患の新しい治療法の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed microRNAs in blood and urine of 150 healthy subjects and patients with renal diseases and found that (1) various microRNAs are expressed in glomerular, tubular, and interstitial cells, (2) microRNA expression in renal tissues correlates with microRNA expression in urine, (3) urinary microRNA expression profiles differ depending on the type of renal lesion, and (4) specific urinary microRNAs are associated with decreased renal function.

These results suggest that various microRNAs are involved in the onset and progression of renal diseases and that urinary microRNAs reflect the expression of renal tissue microRNAs and the pathogenesis of renal disorders. Therefore, urinary microRNAs can be a prognostic biomarker for renal diseases.

研究分野：腎臓病

キーワード：microRNA 腎臓病

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生活習慣病の増加や人口の高齢化により増加を続ける慢性腎臓病は、末期腎不全や心血管疾患の危険因子であることから、その発症機序の解明と有効な治療の確立が求められている。近年、慢性腎臓病の発症に、18~25塩基からなる内因性 non-coding RNA である microRNA が、RNA 翻訳抑制を介して関与することが明らかになった。

糸球体や尿細管の各細胞から分泌される microRNA の一部は exosome に封入され尿中に排泄される。Exosome 内の microRNA は RNase による分解を受けないため、尿中に排泄される microRNA は腎臓内での microRNA 発現を反映している可能性がある。しかし、これまで、腎と尿中の microRNA について同時に評価し、腎病変形成や予後との関連について検討した報告はない。

### 2. 研究の目的

腎組織・尿の microRNA の発現における遺伝素因と環境因子の影響、microRNA と腎病変形成や予後との関連を明らかにし、尿 microRNA の発現調節機序と新規バイオマーカーとしての有用性を検討する。

### 3. 研究の方法

- (1) ヒト腎生検症例・腎障害動物モデルを用い、腎組織病変・腎障害指標と腎組織・尿 microRNA の関連を網羅的に解析し、腎病変の指標となる microRNA を同定する。
- (2) ヒト腎生検症例で、(1)で同定された腎組織・尿 microRNA の病変進行や治療介入による変化を経時的に評価する。
- (3) 地域住民、腎疾患患者コホートで、microRNA と遺伝素因・環境因子の関連、腎不全や心血管疾患発症リスク評価に尿 microRNA が有効か検証する。

これらの結果を統合し、腎組織・尿 microRNA の発現調節機序と疾患バイオマーカーとしての有用性を検討する。

### 4. 研究成果

#### (1) ヒト腎生検症例における横断的解析：腎病変の指標となる microRNA の同定

・腎疾患症例における尿中の総 microRNA 量と腎病変の関連：様々な腎疾患をもつ 150 症例の腎生検症例の尿から microRNA を抽出し、全例で microRNA が検出可能であった。尿 microRNA 濃度は腎生検組織から抽出した microRNA 発現量と正相関したが、腎組織変化（糸球体増殖性変化、硬化病変、間質線維化）と有意な相関を示さなかった。

・IgA 腎症における尿 microRNA と腎病変の関連：IgA 腎症 88 例において、尿中 miR-192 と miR-200c 濃度は、糸球体増殖性変化と有意な負の相関を認めたと、硬化病変、間質線維化）と有意な相関を示さなかった。

#### (2) ヒト腎生検症例における縦断的解析：腎病変進行・治療介入と尿 microRNA の関連

・症例数が多い IgA 腎症症例の腎機能変化と尿 microRNA プロファイルの関連に注目して解析を行った。初めに、健常者 5 例・IgA 腎症 88 例の尿から microRNA を抽出し、全例で測定可能な量の microRNA を回収した。尿中の総 microRNA 濃度と総蛋白濃度は有意な正相関を示した。

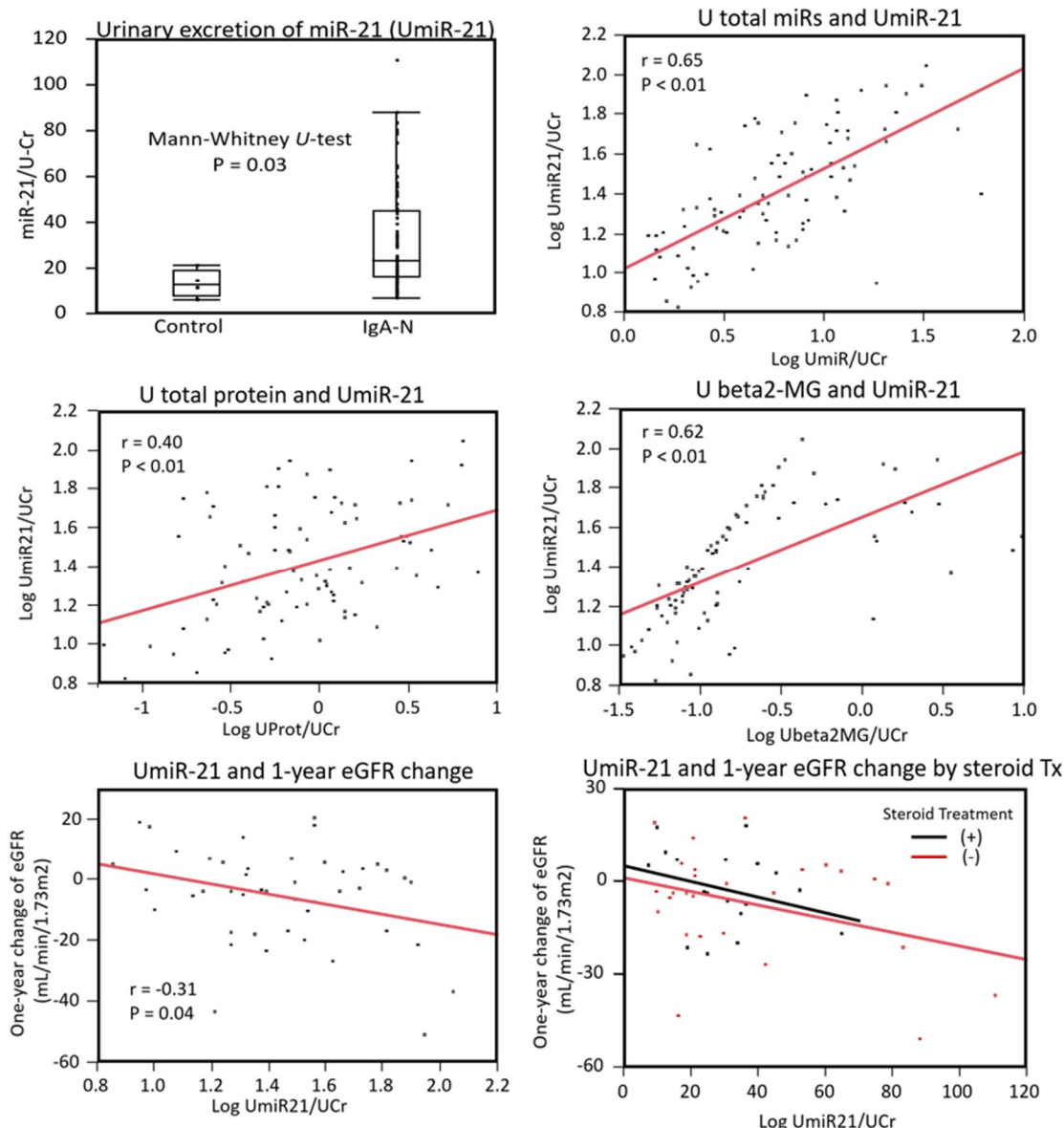
・次に IgA 腎症患者の中で 1 年間の腎機能低下が大きい群と小さい群から各 5 例ずつ選び、マイクロアレイ解析により尿 microRNA プロファイルを比較したところ、2 倍以上発現量の異なる複数の尿 microRNA を同定した。その中の一つである miR-21 に注目し以下の解析を行った。尿中の microRNA および蛋白の濃度は、尿クレアチニン濃度で補正し、対数変換して単純相関分析を行った。

・miR-21 の尿中排泄は全症例で検出され、IgA 腎症患者 88 例の尿 miR-21 濃度は健常者に比べて有意に高値であった（図：上段左）。尿中の miR-21 濃度は、総 microRNA（図：上段右）総蛋白（図：中段左）、2-ミクログロブリン（中段右）、N-アセチル-D-グルコサミニダーゼ（NAG）の尿中濃度と有意な正の相関を示したが、ベースラインの eGFR、尿中赤血球の程度とは相関しなかった。尿 miR-21 濃度は、糸球体増殖・硬化や尿細管間質性線維症などの組織学的変化とは有意な相関を示さなかった。

・生検後 1 年間の eGFR 変化は、尿中の miR-21 濃度（図：下段左）および総蛋白濃度と有意な逆相関を示したが、総 microRNA、2-ミクログロブリン、NAG の尿中濃度とは有意な相関を示さなかった。また、尿 miR-21 濃度と 1 年間の eGFR 変化との相関関係は、ステロイド治療を受けた症例と受けていない症例で同様であった（図：下段右）。

・これらの結果から、IgA 腎症患者において、尿 miR-21 濃度は、臨床指標および 1 年間の腎機能の変化と関連しており、尿 miR-21 が IgA 腎症のバイオマーカーとして使用できる可能性が

示唆された (2020 年米国腎臓学会にて発表)。



・現在、腎機能変化と関連を示す miR-21 以外の microRNA についても同様の検討を行っており、複数の microRNA を組み合わせることで、腎疾患バイオマーカーとしての有用性が増すか検討中である。

### (3) 地域住民コホートにおける解析：高血圧、呼吸器疾患、死亡と腎疾患の関連における microRNA の関与

・地域住民健診受診者コホートにおいて、尿中 Na 排泄が多いほど血圧は上昇するが、腎機能低下が大きい群ほど、その関連は強まることを報告した (Watanabe S, et al. Clin Exp Nephrol 2019)。

・地域住民健診受診者において、腎機能低下と呼吸機能障害 (気流制限) はともに約 10% にみられ両者は合併しやすいこと、合併群の生命予後は非合併群より不良であることを報告した (Suzuki N, et al. Scientific Reports 2020)。

これらのことから、地域住民において、様々な疾患と腎機能障害が関連することが明らかになった。各病態形成に腎疾患関連 microRNA が関与する可能性があり、今後検討が必要である。

以上、(1)(2)(3)の結果から、様々な microRNA が腎疾患の発症や進行に関与し、尿 microRNA は腎組織 microRNA 発現や腎障害の病態と相関すること、尿 microRNA は腎疾患の予後を予測するバイオマーカーとなりうるということが示唆された。しかし、腎疾患診断や病態解明に尿 microRNA を用いるには、解析件数を増やしより詳細な検討が必要と思われた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Suzuki N, Matsuki E, Araumi A, Ashitomi S, Watanabe S, Kudo K, Ichikawa K, Inoue S, Watanabe M, Ueno Y, Ishizawa K, Kayama T, Konta T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Association among chronic kidney disease, airflow limitation, and mortality in a community-based population: The Yamagata (Takahata) study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 5570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-62540-8	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 Watanabe Sayumi, Konta Tsuneo, Ichikawa Kazunobu, Watanabe Masafumi, Ishizawa Kenichi, Ueno Yoshiyuki, Yamashita Hidetoshi, Kayama Takamasa, Kubota Isao	4. 巻 23
2. 論文標題 The association between urinary sodium excretion and blood pressure in a community-based population: the Yamagata (Takahata) study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Nephrology	6. 最初と最後の頁 380 ~ 386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10157-018-1654-3	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Akira Araumi, Tsukasa Osaki, Kazunobu Ichikawa, Masafumi Watanabe, Tsuneo Konta
2. 発表標題 The correlation between urinary microRNA-21 and renal parameters in patients with IgA nephropathy
3. 学会等名 Kidney Week 2020, Denver USA, Oct 2020 (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
研究協力者	近 壮一郎 (KON SOICHIRO)		

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
---------	---------