

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17738

研究課題名(和文)マトリックスメタロプロテイナーゼ2が腎線維化に与える影響の解明

研究課題名(英文)The role of matrix metalloproteinase-2 in kidney fibrosis

研究代表者

西濱 康太(Nishihama, Kota)

三重大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90832527

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)：MMP2過剰発現マウスを用いたin vivo実験では、コントロール群のマウスに対する腎線維化の誘導に想定以上の期間を要したことや他施設でのMMP2に関する新たな研究成果が発表されたことが影響し、期間内にMMP-2による直接的な腎線維化への影響の解析を終えることはできなかった。一方で、MMP2の関連物質であるTGF-1と腎線維化に関する検討では、腎特異的なTGF-1の過剰発現が腎線維化を進行させることおよびトロンボモジュリンの抗アポトーシス作用がこの機序を介した腎線維化を抑制することに成功した。また、TGF-1を介した臓器線維化の進行に、特定の細菌がもつペプチドが影響を与えることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で、MMP2に関連した物質が腎線維化を進行させる詳細な機序を解明し、その抑制方法についても明らかにすることができた。また、特定の細菌が産生する物質が臓器の線維化に関与する可能性についても明らかにすることができた。これらの研究結果は、糖尿病腎症をはじめとする慢性腎疾患の早期発見や進行抑制方法を確立するために役立つものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In our in vivo experiment using transgenic mice overexpressing human MMP2, it took longer than expected to induce renal fibrosis in the control group of mice. In addition, new insights related MMP2 and renal disorder were reported from other research institutes. Due to these factors, we were unable to complete the analysis of the direct effects of MMP-2 on renal fibrosis within the period.

On the other hand, the relationship between TGF-1, which is a related substance of MMP2, and renal fibrosis could be shown by experiments using glomerular-specific human transforming growth factor-1 transgenic mice. In addition, we were able to show that the anti-apoptotic effect of thrombomodulin suppresses the progression of renal fibrosis.

We also found that peptides from certain bacteria influence the progression of TGF-1-mediated organ fibrosis.

研究分野：糖尿病・内分泌内科

キーワード：腎線維化 糖尿病腎症 マトリックスメタロプロテイナーゼ2 アポトーシス

## 1. 研究開始当初の背景

腎線維症は全ての腎疾患において不可逆的な腎障害の進行につながる病態であるが、その機序は複雑であり、根本的な治療法の確立が待たれる。研究代表者らのこれまでの研究成果から線維化の進行抑制に関わるマトリックスメタロプロテナーゼ 2(MMP2)が細胞外基質の分解に加えて直接的に細胞のアポトーシスを抑制することが明らかになった。MMP2 が腎線維症に保護的に働くことが明らかとなれば、新たな治療法の開発につながる可能性があり、既存の薬剤の MMP2 への影響を検討することで、新たな効能・効果の発見につながる可能性もある。

## 2. 研究の目的

ヒト MMP2 過剰発現トランスジェニックマウスを用いた腎障害モデルマウスによる in vivo 及び in vitro の実験により、MMP2 の腎臓の細胞への直接作用により腎線維症の進行が抑制されることと、その詳細な機序を明らかにする。

## 3. 研究の方法

ヒト MMP2 過剰発現トランスジェニックマウスおよび腎系球体特異的 TGF- $\beta$ 1 トランスジェニックマウスを用いた in vivo 及び in vitro の実験を中心に、MMP2 関連物質も含めた実験および解析を実施した。

## 4. 研究成果

過去に我々が行った研究では MMP2 が腎細胞に対して AKT シグナルを介した抗アポトーシス作用を発揮することが示されたが、新たに気管支喘息疾患モデルの肺組織でも MMP2 の過剰発現は AKT シグナルの亢進が確認された(図 1)。この結果は MMP2 の過剰発現が腎臓を含む多臓器に対して抗アポトーシス作用をもつことの裏付けになると考えられる。MMP2 過剰発現マウスへの腎線維化の誘発実験では、コントロール群のマウスに対する腎線維化の誘導に想定以上の期間を要したため、年度内の解析の完了には至らなかった。また、本研究遂行中に発表された他施設の研究論文で、MMP2 が特定の時期に腎障害の進行を促進しうる新たな機序が示されたため、MMP2 過剰発現マウスにおける腎障害の評価時期や評価項目につき、計画当初より多面的な検討を行う必要が生じ、MMP-2 による直接的な腎線維化への影響を明らかにするためには今しばらくの時間を要することとなった。

一方で、MMP2 との関連が示唆される transforming growth factor- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)との関連についても検討を行い、我々が開発した腎系球体特異的 TGF- $\beta$ 1 トランスジェニックマウスを用いた実験では、腎臓を中心とした TGF- $\beta$ 1 の濃度上昇により系球体硬化症および尿細管間質線維化が進行することが確認され(図 2)、トロンボモジュリンが G-protein coupled receptor 15 (GPR-15) による AKT の活性化を介した抗アポトーシス作用を発揮することで本機序による腎線維化の抑制に関与することを示すことに成功した(図 3)。

さらに TGF- $\beta$ 1 を介した肺線維症の進行に、特定の細菌がもつペプチドが影響を与えることを解明することに成功した(図 4)。MMP2 と腎線維症の関連を追求するうえで検討すべき重要な要素を同定することができた。この結果をもとに、糖尿病腎症を有する患者群より検体を収集し解析を進める予定である。

本研究においては MMP-2 関連物質と腎線維化に関する新たな経路の同定およびその経路を標的とした治療法の開発に関しての成果をあげることができた。

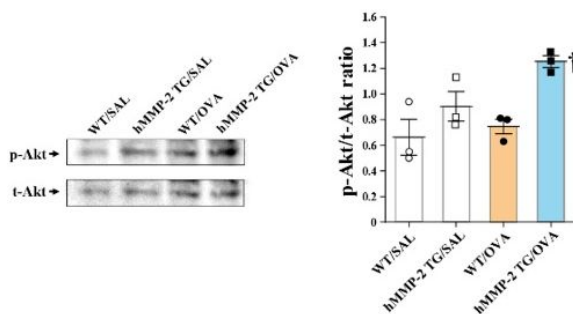


図 1. MMP2 の過剰発現は気管支喘息の誘発に対して AKT シグナルの亢進を介して保護的に働く

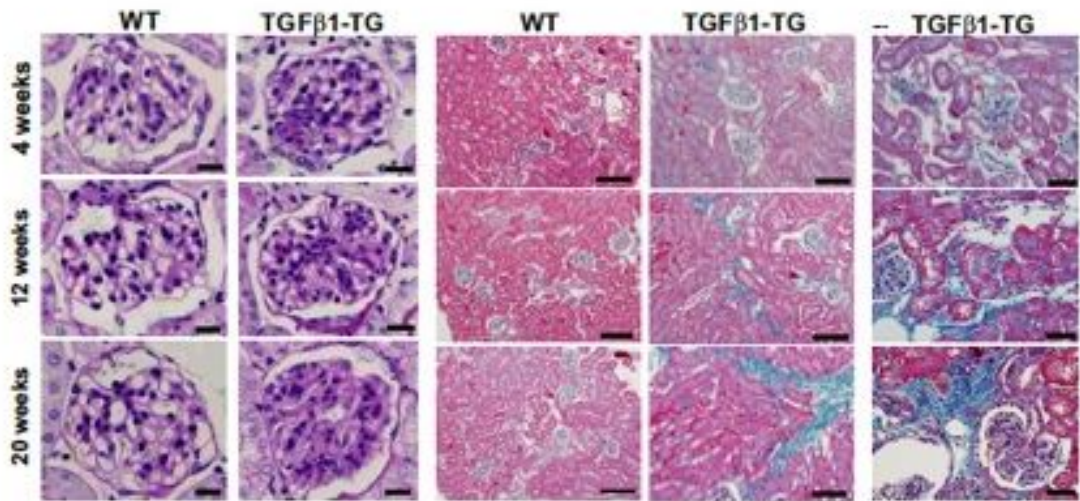


図 2. 腎系球体特異的 TGF $\beta$ 1 トランスジェニックマウスでは腎組織の線維化を進行させる

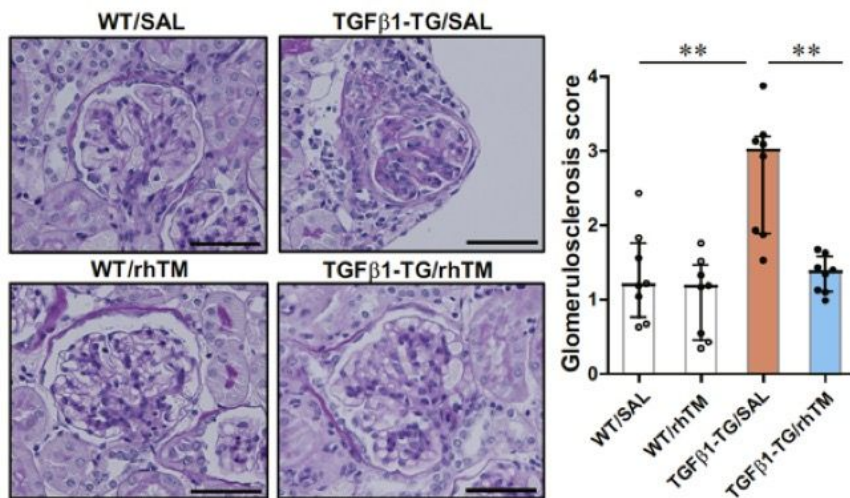


図 3. トロンボモジュリン(rhTM)の投与により腎系球体特異的 TGF $\beta$ 1 トランスジェニックマウスの腎障害の進行は抑制された

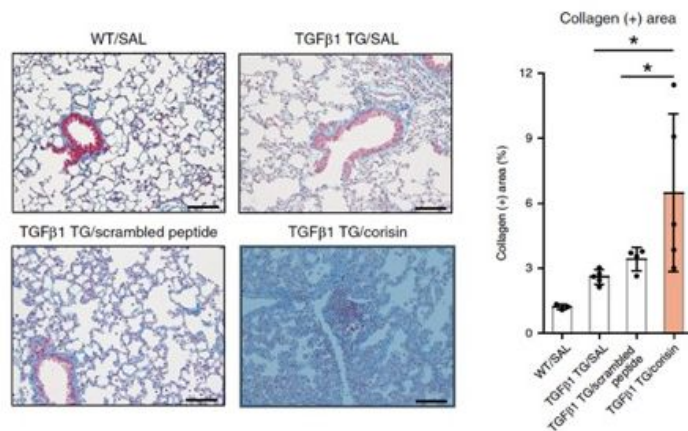


図 4. 特定の細菌がもつペプチド (Corisin) が TGF $\beta$ 1 を介した肺線維症の進行を悪化させた

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Takeshita Atsuro, Yasuma Taro, Nishihama Kota, D' Alessandro-Gabazza Corina N., Toda Masaaki, Totoki Toshiaki, Okano Yuko, Uchida Akihiro, Inoue Ryo, Qin Liqiang, Wang Shujie, D' Alessandro Valeria Fridman, Kobayashi Tetsu, Takei Yoshiyuki, Mizoguchi Akira, Yano Yutaka, Gabazza Esteban C.	4. 巻 98
2. 論文標題 Thrombomodulin ameliorates transforming growth factor- 1-mediated chronic kidney disease via the G-protein coupled receptor 15/Akt signal pathway	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 1179 ~ 1192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.kint.2020.05.041	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 D' Alessandro-Gabazza Corina N, Kobayashi Tetsu, Yasuma Taro, Toda Masaaki, Fujimoto Hajime, Hataji Osamu, Takeshita Atsuro, Nishihama Kota, Okano Tomohito, Okano Yuko, Nishii Yoichi, Tomaru Atsushi, Fujiwara Kentaro, D' Alessandro Valeria Fridman, Yano Yutaka, Cann Isaac, Gabazza Esteban C	4. 巻 11
2. 論文標題 A Staphylococcus pro-apoptotic peptide induces acute exacerbation of pulmonary fibrosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1539-1539
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-15344-3	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 Takahashi Yoshinori, Kobayashi Tetsu, D'Alessandro-Gabazza Corina N, Toda Masaaki, Fujiwara Kentaro, Okano Tomohito, Fujimoto Hajime, Asayama Kentaro, Takeshita Atsuro, Yasuma Taro, Nishihama Kota, Inoue Ryo, Qin Liqiang, Takei Yoshiyuki, Taguchi Osamu, Gabazza Esteban C	4. 巻 10
2. 論文標題 Protective Role of Matrix Metalloproteinase-2 in Allergic Bronchial Asthma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 1795-1795
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.01795	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 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安間 太郎, 竹下 敦郎, 岡野 優子, 内田 明宏, 西濱 康太, ガバザ コリナ, 戸田 雅昭, 矢野 裕, ガバザ エステバン
2. 発表標題 プロテインSのインスリン抵抗性改善効果
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹下 敦郎, 安間 太郎, 岡野 優子, 内田 明宏, 井上 知紗, 西濱 康太, 戸田 雅昭, ガバザ コリナ, 矢野 裕, ガバザ エステバン
2. 発表標題 慢性腎不全モデルマウスを用いたトロンボモジュリンによる腎保護作用の検討
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡野 優子, 内田 明宏, 竹下 敦郎, 西濱 康太, 安間 太郎, ガバザ コリナ, 戸田 雅昭, 矢野 裕, ガバザ エステバン
2. 発表標題 外因性プロテインSのSTZ誘発糖尿病に対する保護効果
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西濱 康太
2. 発表標題 糸球体特異的TGF- $\beta$ 1過剰発現マウスを用いた糖尿病腎症動物モデルの作成
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹下 敦郎、岡野 優子、安間 太郎、井上 知紗、内田 明宏、西濱 康太、ガバザ コリナ、戸田 雅昭、矢野 裕、ガバザ エステバン
2. 発表標題 ヒト組換えトロンボモジュリン投与による腎線維化、腎不全抑制効果の検討
3. 学会等名 第34回日本糖尿病合併症学会・第25回日本糖尿病眼学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内田 明宏、竹下 敦郎、岡野 優子、西濱 康太、安間 太郎、ガバザ コリナ、戸田 雅昭、上村 明、鈴木 俊成、矢野 裕、ガバザ エステバン
2. 発表標題 トロンボモジュリンによるポドサイトの抗アポトーシス効果の検証
3. 学会等名 第34回日本糖尿病合併症学会・第25回日本糖尿病眼学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsuro Takeshita, Yuko Okano, Taro Yasuma, Akihiro Uchida, Kota Nishihama, Corina N. D' Alessandro-Gabazza, Masaaki Toda, Yutaka Yano, Esteban C.Gabazza
2. 発表標題 Attenuation of renal fibrosis by recombinant thrombomodulin
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuko Okano, Chisa Inoue, Akihiro Uchida, Atsuro Takeshita, Kota Nishihama, Taro Yasuma, Corina N. D' Alessandro-Gabazza, Masaaki Toda, Yutaka Yano, Esteban C.Gabazza
2. 発表標題 Protective effect of thrombomodulin against the development of diabetic nephropathy
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akihiro Uchida, Atsuro Takeshita, Yuko Okano, Taro Yasuma, Chisa Inoue, Kota Nishihama, Corina N. D' Alessandro-Gabazza, Masaaki Toda, Yutaka Yano, Esteban C. Gabazza
2. 発表標題 A noninvasive mouse model of renal fibrosis induced by podocyte-specific overexpression of human transforming growth factor-1
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019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
---------	---------