

令和 5 年 5 月 10 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18616

研究課題名（和文）オステオポンチン抗体による新規尿路結石治療薬の開発

研究課題名（英文）Development of new medications for urinary stone using an osteopontin antibody

研究代表者

海野 怜（Unno, Rei）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・助教

研究者番号：40755683

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）：尿路結石の生涯罹患率は増加しており、形成機序の解明と再発予防法の確立は急務である。これまでに私たちは、肥満モデルマウスにおいて尿路結石の形成が促進することを証明し、尿路結石がメタボリックシンドローム（MetS）の一病態であることを提唱した。また、尿路結石内に含まれる有機物質であるオステオポンチン（OPN）が、動脈硬化発生時にも発現し、尿路結石有病率と大動脈の石灰化に高い相関性があることを示した。本研究から、OPN抗体の尿路結石抑制作用を検討したところ、本抗体はオートファジーを介した細胞保護作用を介して尿路結石を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

尿路結石の生涯罹患率は増加しており、形成機序の解明と再発予防法の確立は急務である。しかしながら、尿路結石に対する治療はその大部分を侵襲の強い外科的治療に頼っている。本研究から我々は、尿路結石の中で認められるオステオポンチンに着目し、その抗体を使用した結石予防効果を検討したところ、この抗体は細胞保護作用を示すオートファジーを活性化させて予防効果を示す可能性が示唆され、新規治療薬となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The lifetime prevalence of urinary calculi is increasing, and elucidation of the formation mechanism and establishment of recurrence prevention methods are urgently needed. We have previously demonstrated that stone formation is accelerated in obesity model mice, and proposed that urinary calculi are a pathological condition of metabolic syndrome (MetS). In addition, osteopontin (OPN), an organic substance contained in urinary calculi, was also expressed during arteriosclerosis, and showed a high correlation between the prevalence of urinary calculi and aortic calcification. From this study, we examined the inhibitory effect of OPN antibody on suppressing urinary calculi, suggesting that this antibody may suppress urinary calculi through autophagy-mediated cytoprotection.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：尿路結石 オートファジー 酸化ストレス 細胞傷害 オステオポンチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

尿路結石の生涯罹患率は、食生活の欧米化に伴い上昇し男性では 100 人中 15 人に、女性では 100 人中 7 人に達している。尿路結石は多因子疾患であり、さまざまな要因が重なって発症する。尿路結石の成分の 90%以上をシュウ酸、カルシウムなどの無機物質が占め、これらが尿中で過飽和となることが結石の成因と考えられてきたが、その成因は完全には解明されていない。また尿路結石は、末期腎臓病へと進行する難治性疾患のため、予防法を含めた内科的根治治療の確立が望まれているが、未だ達成されていない。これまでに私たちは、肥満モデルマウスにおいて尿路結石の形成が促進することを証明し、尿路結石がメタボリックシンドローム(MetS)の一病態であることを提唱した。また、尿路結石内に含まれる有機物質であるオステオポンチン(OPN)が、動脈硬化発生時にも発現し、尿路結石有病率と大動脈の石灰化に高い相関性があることを示した。以上の結果から、Mets の病態の中心に OPN の発現上昇があると考え、MetS 環境下における、OPN 抗体による新規尿路結石治療薬・動脈硬化抑制薬の開発を試みる。

2. 研究の目的

尿路結石形成過程におけるオステオポンチン抗体の働きを理解し、その結石抑制効果のメカニズムを解明することで結石形成抑制治療薬の開発を目指す。

3. 研究の方法

In vitro: 尿細管細胞と脂肪細胞の Mets 環境における OPN 抗体の結晶付着に対する予防効果の検討をする。マウス尿細管上皮細胞 (M-1) 脂肪細胞 (3T3L1) を、ダブルチャンバーを用いて共培養し、パラクライン環境における、OPN 抗体による結晶の付着・凝集の抑制効果、さらに動脈硬化関連因子に対する抑制効果を調べる。

In vivo: Mets モデルマウスにおける OPN 抗体による尿路結石・動脈硬化の予防効果の検討をする。GOX 投与により結石を形成させた Mets モデルマウスに対して、OPN 抗体を投与して尿路結石と動脈硬化に対する予防効果を検討する。8 週齢雄 Mets モデルマウス(レプチン欠損マウス:B6.V-Lepob/ob; Lep^{-/-})を以下のコントロール群と OPN 抗体投与群に分け、シュウ酸前駆物質である GOX80mg/kg を腹腔内に連日投与し、尿路結石を形成させる。

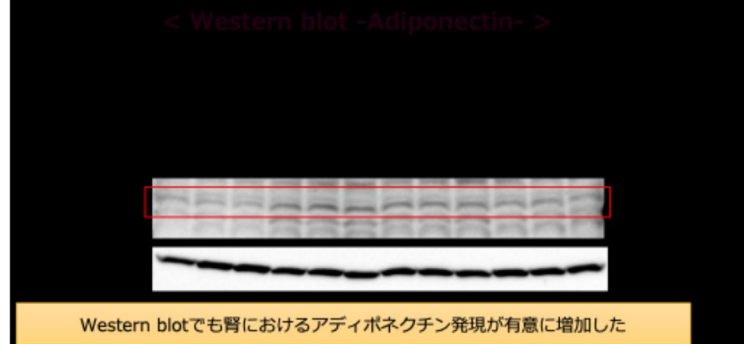
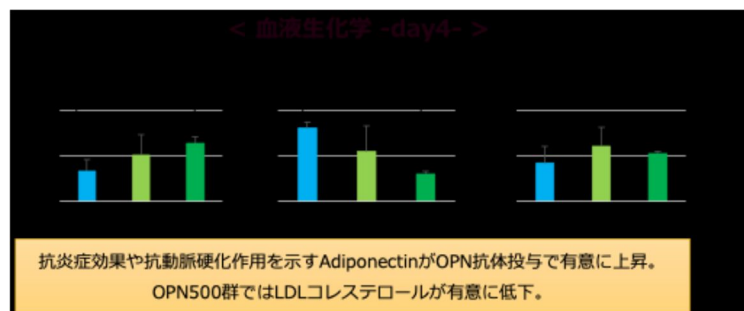
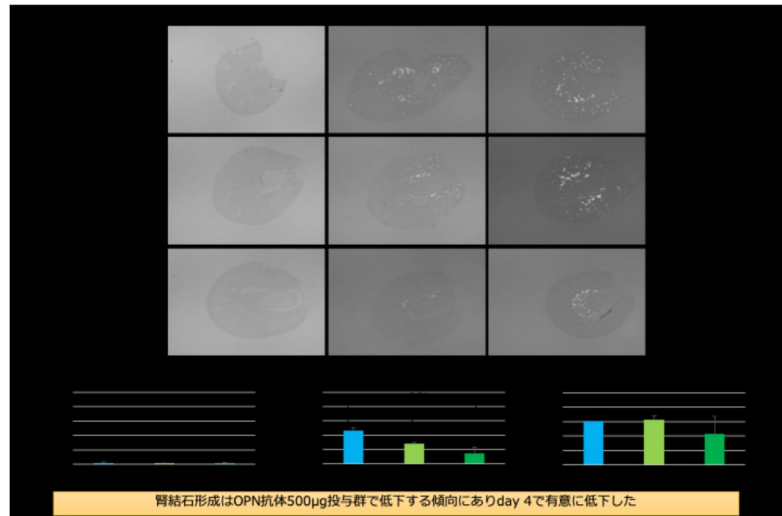
オートファジーの検討: 細胞保護作用を持つオートファジーの低下が結石形成の促進因子となることがわかった。そこで、オステオポンチン抗体を使用したマウスにおいてオートファジー活性を LC3B の発現、p62 の Western-blot、透過型電子顕微鏡での細胞内観察で検討した。

4. 研究成果

In vitro: 共培養をした群において OPN 抗体を投与すると、抗体を投与していない群と比べ結晶の凝集や有意に抑制された。その結果、結晶の細胞への付着も有意に抑制されることがわかった。q-PCR にてチャンバー内の炎症を測定するため IL6、TNF- α を測定したところ、炎症も抑えられることがわかった。

In vivo: OPN 抗体を投与した群において、結石形成が抑制される傾向があった。特に 500 μ g 投与した群において有意に抑制された(図)。

動脈硬化に関しては、マウスが若年であったため両者とも動脈硬化を認めなかったが、動脈硬化を軽減させる抗炎症サイトカインであるアディポネクチン(APN)が、コントロール群では有意に低下したのに対して、OPN 抗体投与群で低下しなかった(図)。さらに、OPN 抗体投与群では腎臓、大動脈壁で IL6 や TNF- の発現が低下した。透過型電子顕微鏡では、OPN 抗体投与群では、腎尿細管細胞内のオルガネラ傷害が軽微であった。そこでオートファジーの検討をしたところ、OPN 抗体によりオートファジーの減衰を抑制し、結石形成を抑制する可能性が示唆された。



本研究から OPN 抗体は、Mets 環境下において尿路結石形成を有意に抑制した。さらに、APN の低下を予防することで動脈硬化をはじめとした Mets の病態を予防する可能性が認められた。OPN 抗体は、結石治療薬としてだけではなく、新規の動脈硬化治療薬の可能性が示唆された。

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 0件）

1. 著者名 Unno Rei, Kawabata Tsuyoshi, Taguchi Kazumi, Sugino Teruaki, Hamamoto Shuzo, Ando Ryosuke, Okada Atsushi, Kohri Kenjiro, Yoshimori Tamotsu, Yasui Takahiro	4. 巻 16
2. 論文標題 Deregulated MTOR (mechanistic target of rapamycin kinase) is responsible for autophagy defects exacerbating kidney stone development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Autophagy	6. 最初と最後の頁 709 ~ 723
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15548627.2019.1635382	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 Unno Rei, Kawabata Tsuyoshi, Taguchi Kazumi, Sugino Teruaki, Hamamoto Shuzo, Ando Ryosuke, Okada Atsushi, Kohri Kenjiro, Yoshimori Tamotsu, Yasui Takahiro	4. 巻 16
2. 論文標題 Deregulated MTOR (mechanistic target of rapamycin kinase) is responsible for autophagy defects exacerbating kidney stone development	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Autophagy	6. 最初と最後の頁 709 ~ 723
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15548627.2019.1635382	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 服部 竜也、田口 和己、茶谷 亮輔、岡田 朋記、河瀬 健吾、杉野 輝明、田中 勇太郎、海野 怜、瀧本 周造、安藤 亮介、岡田 淳志、安井 孝周
2. 発表標題 尿細管上皮細胞におけるシュウ酸カルシウム結晶付着によるオステオポンチン発現とマクロファージ活性の解析
3. 学会等名 第64回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 服部 竜也、田口 和己、茶谷 亮輔、岡田 朋記、河瀬 健吾、田中 勇太郎、杉野 輝明、海野 怜、広瀬 泰彦、瀧本 周造、安藤 亮介、岡田 淳志、安井 孝周
2. 発表標題 尿細管上皮細胞およびマクロファージにおける結晶付着とオステオポンチンの機能解析
3. 学会等名 日本尿路結石症学会第31回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Unno Rei, Taguchi Kazumi, Manint Usawachintachit, Heiko Yang, Fadl Hamouche, Justin Ahn, David Bayne, Marshall Stoller, Thomas Chi,
2. 発表標題 MATERNAL FAMILY HISTORY OF UROLITHIASIS IS ASSOCIATED WITH EARLIER ONSET OF URINARY STONE DISEASE: RESULTS FROM RESKU
3. 学会等名 American Urological Association Annual Meeting 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 海野 怜、海野 奈央子、田口 和己、藤井 泰普、瀧本 周造、安藤 亮介、岡田 淳志、神谷 浩行、本間 秀樹、郡 健二郎、安井 孝周
2. 発表標題 オステオポンチン抗体により尿路結石と動脈硬化は抑制される
3. 学会等名 第107回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 海野 怜、川端 剛、海野 奈央子、田中 勇太郎、杉野 輝明、田口 和己、瀧本 周造、安藤 亮介、岡田 淳志、坂倉 毅、吉森 保、安井 孝周
2. 発表標題 mTOR/TFEBシグナル障害によるオートファジーの低下が腎尿路結石形成の誘因となる
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 3.Unno Rei, Kawabata Tsuyoshi, Takase Hiroshi, Sugino Teruaki, Tanaka Yutaro, Unno Naoko, Fujii Yasuhiro, Taguchi Kazumi, Hamamoto Shuzo, Ando Ryosuke, Okada Atsushi, Kamiya Hiroyuki, Yasui Takahiro
2. 発表標題 Deregulated mTOR is responsible for autophagy defect exacerbating kidney stone development
3. 学会等名 American Urological Association Annual Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 杉野 輝明、田中 勇太郎、海野 怜、田口 和己、瀧本 周造、安藤 亮介、岡田 淳志、安井 孝周	4. 発行年 2020年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 7
3. 書名 肥満と尿路結石	

〔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
---------	---------