

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：23903

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K23007

研究課題名(和文)褐色脂肪細胞が持つ尿路結石抑制効果の機序解明と新規予防法開発

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of urinary stone inhibitory effect of brown adipocytes and development of new preventive methods

研究代表者

杉野 輝明(Sugino, Teruaki)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・助教

研究者番号：70881746

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文): [1] 5週齢のC57/BL6Jマウスを用いて、褐色脂肪細胞を除去する群、除去した褐色脂肪細胞を移植する群、Sham手術を行う群を用意した。手術後28日目より、腎結石モデルマウスの手法を用いて、それぞれ腎結石を作成させた。褐色脂肪細胞を移植した群においては、Sham手術を行なった群と比較して有意に結石形成量が少なく、腎における炎症性マーカーの発現が低かった。

[2] 8週齢の野生型マウス(Ucp1+/+)およびUCP1ノックアウトマウス(欠損型, Ucp1-/-)に腎結石を形成させた。欠損型では、野生型と比較して結石形成量が有意に多く、腎における炎症性サイトカインの発現が高かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

私たちは、「尿路結石はメタボリックシンドローム(MetS)の一病態」という概念を提唱してきた。そこで、熱産生タンパクUCP1(uncoupling protein-1)を発現してエネルギー代謝を行ない、抗MetS作用を示す『褐色脂肪細胞』に着目した。これまでに、マウスを用いた基礎実験を行い、褐色脂肪細胞の活性化によって尿路結石を予防できる可能性があることを見出した。本研究では、『褐色脂肪細胞の活性化によるMetSの改善』を応用した結石予防法の確立を目指す。動物モデルを用いて褐色脂肪細胞が持つ結石抑制効果のメカニズムを解明するとともに、特異的タンパク質UCP1の機能解析を行う。

研究成果の概要(英文): [1] Using 5-week-old C57/BL6J mice, we prepared (1) a group in which brown adipocytes were removed, (2) a group in which the removed brown adipocytes were transplanted, and (3) a group in which Sham surgery was performed. From the 28th day after the operation, a kidney stone was made using the method of a kidney stone model mouse. In the brown adipocyte-implanted group, the amount of calculus formation was significantly lower than in the sham-operated group, and the expression of inflammatory markers in the kidney was low.

[2] Kidney stones were formed in 8-week-old wild-type mice (Ucp1+/+) and UCP1 knockout mice (deficient type, Ucp1-/-). The deletion type had a significantly greater amount of calculus formation and higher expression of inflammatory cytokines in the kidney compared to the wild type.

研究分野：腎結石

キーワード：褐色脂肪細胞 腎結石 メタボリックシンドローム uncoupling protein1

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

わが国における尿路結石の発生頻度は、第二次世界大戦後急増し、生涯罹患率は男性で 15%、女性は 7%となった。その原因は食生活の欧米化などライフスタイルの変化と考えられている。尿路結石症は、近年増加の一途を辿っており、激痛を伴う発作と腎不全のリスクから、予防法の確立が望まれる。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、『尿路結石は MetS の一病態である』という観点から捉え、これまでの結石学および肥満科学の体系や概念を大きく変換させることである。褐色脂肪細胞の特異的タンパク質である UCP1 に着目し、「UCP1 の活性化による MetS の改善」を応用した結石予防法の確立を目指す。本研究においては、動物モデルを用いて褐色脂肪細胞が持つ結石抑制効果のメカニズムを解明するとともに、特異的タンパク質である UCP1 の機能解析を行う。結果を踏まえ、将来的な臨床応用に繋げたい。

### 3. 研究の方法

#### 【研究 1】結石モデルマウスにおける褐色脂肪組織の移植による結石抑制効果

5 週齢の C57/BL6J マウスを用いて、褐色脂肪細胞を除去する群、除去した褐色脂肪細胞を移植する群を設定し、Sham 手術を行う群と比較する(図、各群 n=16)。術後 28 日目からシユウ酸前駆物質であるグリオキシル酸(GOX) 80mg/kg を 6 日間腹腔内投与し、尿路結石を形成させる。

GOX 投与 0、6 日後に 24 時間尿、血清、腎、移植組織を採取する。移植した脂肪組織においては、形態の確認とともに、免疫染色で UCP1 などの遺伝子発現を調べ、組織の生着を確認する。また、腎の結石形成量を偏光顕微鏡と、結石染色である Pizzolato 染色にて評価し、画像解析ソフトにて定量化を行う。さらに、腎組織中の結石関連遺伝子発現および炎症性マーカー、アディポサイトカインの発現を比較する。

#### 【研究 2】ノックアウトマウスを用いた UCP1 の機能解析

褐色脂肪細胞に特異的なタンパク質である UCP1 が尿路結石の形成に与える影響を調べるために、UCP1 ノックアウトマウス(B6.129-Ucp1<sup>tm1Kz</sup>/J)を用いた研究を行う。

ヘテロ遺伝子マウス(Ucp1<sup>+/-</sup>)を導入し、当学実験動物研究教育センターにて管理・交配させ、雄の野生型マウス(Ucp1<sup>+/+</sup>)および欠損マウス(Ucp1<sup>-/-</sup>)が必要頭数得られるまで繁殖させる。8 週齢まで飼育し、GOX80 mg/kg を 6 日間連続で腹腔内投与し、尿路結石を形成させる(各群 n=8)。GOX 投与 0、6 日後に 24 時間尿、血清、腎を採取する。研究 2 と同様の手法を用いて、尿中無機物質、血清の一般生化学、結石形成量、腎組織中の遺伝子発現を定量、比較する。

### 4. 研究成果

【研究 1】移植組織は、褐色脂肪組織の形態が保たれており、免疫染色での UCP1 発現も認められた。移植群では、Sham 群と比較して結石形成量が少なかった(図 1)。腎の遺伝子発現を見ると、移植群で、炎症性サイトカインである Ccl2、Spp1 の発現が有意に低く、Tnf、Emr1 の発現が低い傾向にあった(図 2)。血中サイトカイン測定では、移植群で、抗炎症性サイトカインであるアディポネクチン、IL6、FGF21 が高く、炎症性サイトカインである MCP1、TNF が低い傾向にあった(図 3)。血液・尿生化学所見は群間差を認めなかった。以上の結果から、褐色脂肪細胞は、抗炎症性サイトカインを分泌して結石を抑制する可能性があると考えられた。

【研究 2】欠損型では、野生型と比較して結石形成量が有意に多かった(図 4)。腎の遺伝子発現を見ると、欠損型で炎症性サイトカイン Emr1、Tnf、Spp1 の発現が高かった(図 5)。また、欠損型では腎周囲の脂肪組織において、炎症性細胞の浸潤が強く見られた。血液・尿生化学所見は群間差を認めなかった。以上の結果から、UCP1 が欠損すると全身性の炎症が亢進し、結石形成が促進されると考えられた。

図 1. 結石形成量

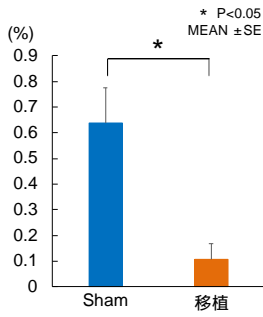


図 2. 腎の遺伝子発現 (定量 RT-PCR)

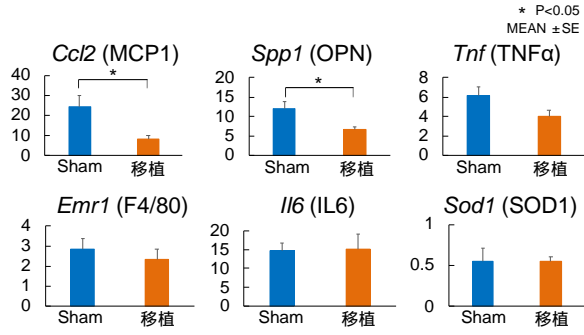


図 3. 血中サイトカイン

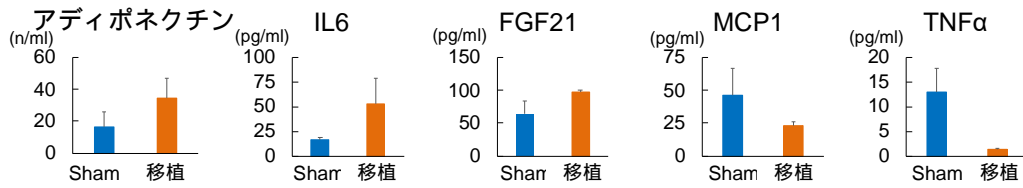


図 4. 結石形成量

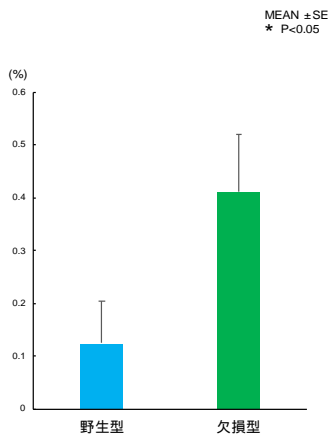
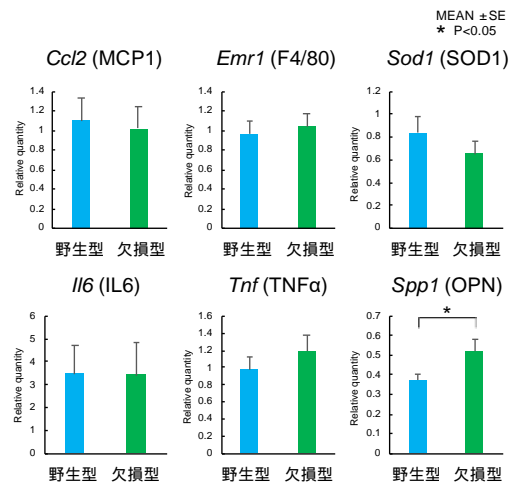


図 5. 腎の遺伝子発現 (定量 RT-PCR)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名	杉野 輝明、海野 怜、田口 和己、瀧本 周造、広瀬 真仁、新美 和寛、秋田 英俊、安藤 亮介、岡田 淳志、安井 孝周
2. 発表標題	ヒト体内における褐色脂肪細胞の存在と尿路結石の関連
3. 学会等名	第109回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	杉野 輝明、須江 保仁、権田 将一、服部 竜也、岡田 朋記、海野 怜、田口 和己、瀧本 周造、安藤 亮介、岡田 淳志、安井 孝周
2. 発表標題	抗肥満作用を持つ褐色脂肪細胞は腎の抗炎症作用によって結石形成を抑制する
3. 学会等名	第71回日本泌尿器科学会中部総会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	杉野 輝明、海野 怜、田口 和己、宇佐美 雅之、瀧本 周造、安藤 亮介、岡田 淳志、安井 孝周
2. 発表標題	PET-CTによるヒト褐色脂肪細胞の検出と尿路結石の関連
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	Sugino Teruaki, Taguchi Kazumi, Unno Rei, Hamamoto Shuzo, Ando Ryosuke, Okada Atsushi, Yasui Takahiro
2. 発表標題	BROWN ADIPOCYTES COULD PREVENT URINARY STONES IN THE HUMAN BODY
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 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
2. 発表標題 尿路結石症の未来へ～基礎研究から予防を再考する～
3. 学会等名 第70回日本泌尿器科学会中部総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 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、最上 徹、郡 健二郎、山下 均、安井 孝周
2. 発表標題 褐色脂肪細胞の熱産生タンパクUCP1による腎結石制御メカニズムの解明
3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会
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
---------------------------	-----------------------	----

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