

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08231

研究課題名(和文)腎線維化に着目したAKIからCKD移行予防への新規治療戦略の開発

研究課題名(英文)New strategy of prevention of transition from AKI to CKD

研究代表者

寺田 典生(Terada, Yoshio)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授

研究者番号：30251531

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)：現在、透析療法に至っている患者数は、全国で34万人を越え、特に急性腎障害(AKI)は、患者の高齢化などにより発症頻度は高まり、慢性腎臓病(CKD)にも高率に移行し、腎・生命予後を低下させることが報告されてきており、その対策が急務である。本申請課題では、AKIからCKDに移行するメカニズムの一つの線維化に着目し、特にZeb2とPhosphatase関連遺伝子である(PNUTS)がAKI後の腎線維化にどのように関与するかを基礎的・臨床的手法を総合的に駆使して解明するとともに、AKIからCKDに移行した患者の腎生検検体を用いてZeb2発現がCKD移行の新規のバイオマーカーになり得るかを検討する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

透析患者数は34万人を超え、その原疾患の一つである急性腎障害(AKI)の患者数と透析導入が著増している。AKIは線維化により慢性腎臓病(CKD)に移行する事が報告されており、透析患者数の減少のためには、病態の解明が急務である。本申請課題では、AKIの病態とCKDに移行するメカニズムの一つの線維化に着目し、特にZeb2とPhosphatase関連遺伝子である(PNUTS)がAKI後の腎線維化にどのように関与するかを基礎的・臨床的手法を総合的に駆使して解明するとともに、AKIからCKDに移行した患者の腎生検検体を用いてZeb2発現がCKD移行の新規のバイオマーカーになり得るかを検討した。

研究成果の概要(英文)：Currently, the number of patients undergoing dialysis therapy exceeds 340,000 nationwide, and acute kidney injury (AKI), in particular, is becoming more frequent due to the aging of patients, and it occurs in about 10% of all hospitalized patients and is chronic. It has been reported that the disease progresses to kidney disease (CKD) at a high rate and deteriorates the kidneys and life prognosis, and countermeasures are urgently needed. In this application, we will focus on fibrosis, which is one of the mechanisms involved in the transition from AKI to CKD, and will conduct a basic research on how Zeb2 and the Phosphatase-related gene (PNUTS) are involved in renal fibrosis after AKI. We will elucidate this by comprehensively using clinical methods, and examine whether Zeb2 expression can be a new biomarker for CKD transition using renal biopsy specimens from patients who have transitioned from AKI to CKD.

研究分野：腎臓内科

キーワード：急性腎障害 尿細管 慢性腎臓病 線維化 Zeb2 慢性腎不全 透析 PNUTS

## 1. 研究開始当初の背景

研究開始当初の令和3年には透析患者数は34万人を超え、その原疾患の一つである急性腎障害(AKI)の患者数と透析導入が著増している。AKIの病態は尿細管細胞と浸潤してきた免疫細胞とのクロストークにより炎症がおこること、さらに線維化により慢性腎臓病(CKD)に移行する事が報告されており、透析患者数の減少のためには、詳細な病態の解明が急務である。本申請課題では、AKIの病態とAKIからCKDに移行するメカニズムの一つの繊維化に着目し、特にZeb2とPhosphatase関連遺伝子である(PNUTS)がAKI後の腎繊維化にどのように関与するかを基礎的・臨床的手法を総合的に駆使して解明するとともに、AKIからCKDに移行した患者の腎生検検体を用いてZeb2発現がCKD移行の新規のバイオマーカーになり得るかを検討する。また線維化などによるAKIからCKDに移行におけるZeb2の関与も検討し、新規治療戦略の開発を目指した。

## 2. 研究の目的

現在、透析療法に至っている患者数は急増し、特に急性腎障害(AKI:acute kidney injury)は発症頻度は高まり、繊維化などにより慢性腎臓病(CKD)に高率に移行し、その対策が急務である。私たちは遺伝子改変マウスを用いた実験と腎生検検体を用いた検討でZinc finger E-box-binding homeobox 2(Zeb2)がAKIの病態と繊維化に関与しCKDへの移行を進行させる事と、加齢と共に減少するPhosphatase 1 nuclear-targeting subunit(PNUTS)を近位尿細管特異的に遺伝子発現誘導をおこすと、AKI後の繊維化が抑制される事を認めている。本研究では、Zeb2とPNUTSによるAKIの病態と繊維化の調整とCKD移行のメカニズムを解明し、新規治療法ならびにバイオマーカーとしての新規診断法を開発することを目指したい。本研究では下記の3テーマについて研究を行う。

## 3. 研究の方法

### 【テーマ1: Zeb2-cKOマウスを用いたAKIからCKD移行の病態に及ぼす影響】

Zeb2はTGF- $\beta$ のシグナル系に関与する転写因子であるが、Cre-Loxpシステムを用いた薬剤誘導性の近位尿細管特異的なZeb2 conditional KOマウス(Zeb2-cKO)を作成して、AKI後の腎機能の変化と14日後の腎機能や繊維化などのCKDへの移行を、野性型(WT)マウスと比較した。さらにWTマウスを用いた解析で、AKI後Zeb2が近位尿細管に発現亢進しその後collagen type IV, CTGF,  $\alpha$ SMAなどの繊維化マーカーが上昇する事が分かった。そしてZeb2-cKOで腎予後が良くCKDへの移行と繊維化が抑制されていることを認めており、その詳細な解析を行う。

### 【テーマ2: 腎生検検体を用いたZeb2の病態への関与の解明と新規バイオマーカーとしての可能性の検討】

AKIからCKDの移行については現在有効な治療法がなく、その理由の一つとして診断のバイオマーカーが確立していない点がある。そこで本テーマではAKIからCKDに移行した腎生検検体を用いてヒト腎組織でのZeb2陽性細胞の同定と検出を行い、ヒトの病態でのZeb2の関与を検討する。我々は予備的な解析で、AKIからCKDに移行した腎生検検体で尿細管においてZeb2の発現亢進を認め、一方腎機能が回復した症例においては発現が低い傾向を認めた。ヒト検体でのZeb2の発現と予後や病態への関与を明らかにし、CKD移行と繊維化のマーカーとしての可能性を検討する。臨床応用に結びつく発展的なテーマと言える。

### 【テーマ3: PNUTS-cKnock-inマウスを用いたAKIからCKD移行の病態の解明】

申請者らの報告(CEN 2017)を含めAKIが繊維化等によりCKDに移行する事が臨床的に注目され、特に高齢者ではAKIの予後が悪い事が知られている。本テーマではAKIからCKD移行におけるPNUTSの関与について解明し、新規治療法を開発する事を目的とする。PNUTSは加齢と共に発現が低下すること、細胞周期調整と抗アポトーシス作用を持つ遺伝子であり、私たちはCre-Loxpシステムを用いた薬剤誘導性の近位尿細管特異的なPNUTS conditional Knock-inマウス(PNUTS-cKnock-in)を作成して、高齢マウス(50週齢)でAKI後14日後の腎機能、腎の繊維化などCKDへの移行をWTマウスと比較した。予備的なデータとしてPNUTS-cKnock-inの高齢マウスでAKIの14日後の腎予後が良く、腎の繊維化が抑制されていることを見いだしている。本テーマは加齢とCKD移行の関連を遺伝子レベルで探索する独創的な検討である。

## 4. 研究成果

今回の基盤研究での成果は下記である。

### 【テーマ1: Zeb2-cKOマウスを用いたAKIからCKD移行の病態に及ぼす影響】

Zeb2 conditional KOマウス(Zeb2-cKO)で虚血/再還流AKI後の予後が良いこと、AKI後Zeb2が近位尿細管に発現亢進しその後collagen type IV, CTGF,  $\alpha$ SMAなどの繊維化マーカーが上昇す

る事が分かり、Zeb2-cKO マウスではその上昇は軽減していた。Zeb2-promoter-luciferase アッセイを用いて活性化への転写因子等の解析を行い、Zeb2 の産生が TGF $\beta$ などのサイトカインにより亢進する事を見いだした。

【テーマ2: 腎生検検体を用いた Zeb2 の病態への関与の解明と新規バイオマーカーとしての可能性の検討】

AKI から CKD の移行については現在有効な治療がなく、その理由の一つとして診断のバイオマーカーが確立していない点がある。そこで本テーマでは AKI から CKD に移行した腎生検検体を用いてヒト腎組織での Zeb2 陽性細胞の同定と検出を行い、ヒトの病態での Zeb2 の関与を検討する。我々は予備的な解析で、AKI から CKD に移行した腎生検検体で尿細管において Zeb2 の発現亢進を認め、一方腎機能が回復した症例においては発現が低い傾向を認めた。ヒト検体での Zeb2 の発現と予後や病態への関与を明らかにし、CKD 移行と繊維化のマーカーとしての可能性を検討した。私たちは、AKI 腎生検組織で浸潤細胞や尿細管での Zeb2 の発現が亢進する事を初めて見いだした

【テーマ3: Pnuts-cKnock-in マウスを用いた AKI から CKD 移行の病態の解明】

Pnuts conditional Knock-in マウス (Pnuts-cKnock-in) を作成して、高齢マウス (50 週齢) で AKI 後 14 日後の腎機能、腎の繊維化など CKD への移行を WT マウスと比較した。予備的なデータでは Pnuts-cKnock-in の高齢マウスで AKI の 14 日後の腎予後が良く、腎の繊維化が抑制されていたが、実験を重ねた結果統計学的な有意差は認められなかった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Inotani S, Taniguchi Y, Nakamura K, Nishikawa H, Matsumoto T, Horino T, Fujimoto S, Sano S, Yanagita M, Terada Y	4. 巻 37
2. 論文標題 Knockout of Zeb2 ameliorates progression of renal tubulointerstitial fibrosis in a mouse model of renal ischemia-reperfusion injury	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nephrol Dial Transplant	6. 最初と最後の頁 454-468
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/ndt/gfab311	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 Horino T, Inotani S, Ishihara M, Terada Y	4. 巻 27
2. 論文標題 Gemcitabine-induced renal thrombotic microangiopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nephrology (Carlton).	6. 最初と最後の頁 724-725
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/nep.14043	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 Horino T, Ueba H, Inotani S, Izumi M, Ichii O, Terada Y	4. 巻 61
2. 論文標題 Jaccoud's arthropathy in the elderly	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 e212
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rheumatology/keab770	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 Horino T, Ohmi S, Inotani S, Nakajima H, Ohnishi H, Komori M, Ichii O, Terada Y.	4. 巻 61
2. 論文標題 Haematologic malignancy-associated mucocutaneous paraneoplastic syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 e207-e208
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rheumatology/keab789	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 Horino T, Inotani S, Nakajima H, Ohnishi H, Komori M, Terada Y.	4. 巻 115
2. 論文標題 Calcinosis and acro-osteolysis in systemic sclerosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 QJM	6. 最初と最後の頁 113-114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/qjmed/hcab331	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 Horino T, Inotani S, Ichii O, Terada Y	4. 巻 115
2. 論文標題 Necrotizing granulomatous vasculitis without crescentic glomerulonephritis in granulomatosis with polyangiitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 QJM	6. 最初と最後の頁 98-99.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/qjmed/hcab267	査読の有無 無
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5件(うち招待講演 2件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 刑部有紀、猪谷哲司、西川浩文、松本竜季、大出佳寿、島村芳子、谷口義典、堀野太郎、藤本新平、寺田典生
2. 発表標題 CKD患者におけるAmphiregulin(AREG)の臨床的意義について
3. 学会等名 第65回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 猪谷哲司、市川陽菜、西川浩文、松本竜季、谷口義典、堀野太郎、藤本新平、佐野栄紀、柳田素子、寺田典生
2. 発表標題 Zeb2は腎繊維化を促進しAKIからCKDへの移行を進行させる
3. 学会等名 第65回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀野太郎, 畠山豊, 安井繁宏, 奥原義保, 寺田典生
2. 発表標題 癌罹患部位による急性腎障害および慢性腎臓病の発生率の違いに関する検討
3. 学会等名 第65回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 寺田典生
2. 発表標題 尿細管障害の診断と治療
3. 学会等名 第118回日本内科学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 寺田典生
2. 発表標題 急性腎障害の基礎と臨床
3. 学会等名 第51回日本腎臓西部学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 寺田典生	4. 発行年 2022年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 622
3. 書名 今日の治療指針	

1. 著者名 寺田典生	4. 発行年 2022年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 289
3. 書名 腎臓の細胞死(necrosis, apoptosis)とautophagy、腎臓論文ベストセレクション	

〔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
研究分担者	谷口 義典  (Taniguchi Yoshinori)  (70584431)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・講師   (16401)	
研究分担者	堀野 太郎  (Horino Taro)  (90448382)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・准教授   (16401)	

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