

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20917

研究課題名（和文）新規腎近位尿細管細胞マーカーACSM2の機能解明と臨床的有用性の検討

研究課題名（英文）Function of ACSM2, a novel renal proximal tubular cell marker, and its clinical utility

研究代表者

渡辺 博文（Watanabe, Hirofumi）

新潟大学・医歯学総合病院・専任助教

研究者番号：20911978

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：ACSM2（Acyl-coenzyme A synthetase medium chain family member 2）は、近年、腎臓の近位尿細管細胞に特異的に発現することが発見されたが、その機能面、発現様式については不明であった。本研究により、新規近位尿細管細胞マーカーであるACSM2の発現が腎臓の障害に伴い低下すること、腎障害からの回復にACSM2が重要な役割を担っている可能性が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎臓の近位尿細管は体液調節による恒常性維持に中心的な役割を担っている。しかし、近位尿細管細胞の機能面については不明な点も多く、臨床的に使用できるバイオマーカーは十分に開発されていない。本研究により、ACSM2の発現・機能が、腎臓病の発症、進展、回復に深く関連していることが示された。ACSM2は、腎臓病診療での新しい治療ターゲットや臨床的に有用なバイオマーカーとなり得る可能性がある。

研究成果の概要（英文）：ACSM2（Acyl-coenzyme A synthetase medium chain family member 2）has recently been discovered to be specifically expressed in the proximal tubule cells of the kidney. However, functional aspects and expression patterns of ACSM2 have remained unknown. This study revealed that the expression of ACSM2 decreases in association with kidney diseases. It also found the potential significant roles of ACSM2 in the recovery from renal injuries.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：近位尿細管 慢性腎臓病 急性腎障害

1. 研究開始当初の背景

近位尿細管細胞は腎臓の細胞の半数以上を占め、糸球体から濾過された原尿の大部分を再吸収し物質輸送を行うことで体液調節を行う、腎臓機能の重要な要素となっている。近位尿細管細胞の障害は腎機能低下に直接的につながる。これまでも近位尿細管の特異的な蛋白質について盛んに研究が行われているが、未だに近位尿細管細胞の機能面については不明な点も多く、臨床的に使用できるバイオマーカーは十分に開発されていない。

研究代表者らは、近年、ACSM2 (Acyl-coenzyme A synthetase medium chain family member 2) が、ヒトとマウスの腎臓で近位尿細管細胞に特異的に発現することを発見した。ACSM2 遺伝子の発現は未分化の細胞ではほとんど見られず、個体が成長するのに従い近位尿細管で高発現することがわかった。さらに、マウスの各種腎障害モデルを用いた検討により、腎機能低下に伴い ACSM2 の発現が低下することも発見し、報告した (Watanabe H, et al. *Am J Physiol Renal Physiol* 2020;319(4):F603-F611)。この、腎臓の近位尿細管細胞に特異的に発現している ACSM2 がどのような機能を持ち、どのように腎機能と関連しているかは不明であった。

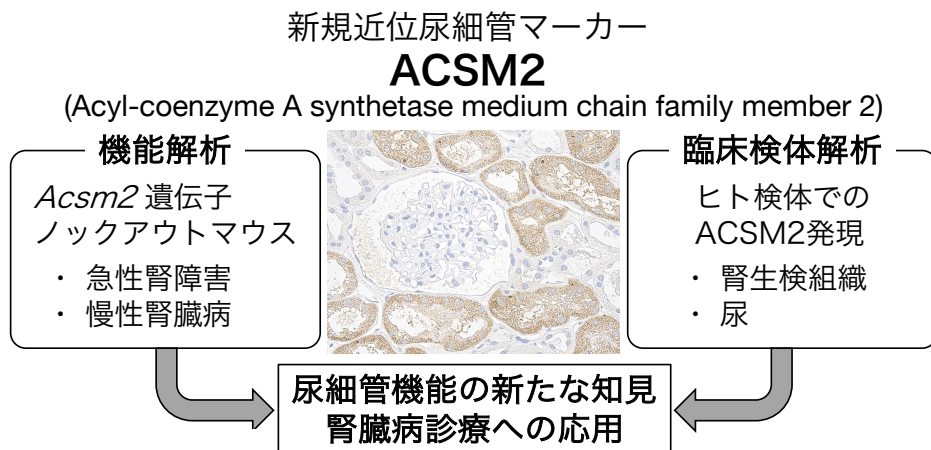
2. 研究の目的

本研究は、*Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスと腎臓病患者検体とを用いることにより、新規近位尿細管細胞マーカー ACSM2 の機能と発現様式に関する複合的な検討を行う。

ACSM2 は、研究代表者らが初めて腎臓の近位尿細管特異的であることを発見した蛋白であり、研究代表者らは世界で唯一の *Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスを有している。近位尿細管細胞は他の細胞と比較しエネルギー消費・代謝が大きい。近年、近位尿細管における代謝が腎機能制御に大きな役割を担っているのではないかと注目されている。本研究がターゲットとする ACSM2 の機能は現時点では解明されていないが、他の Acyl-coenzyme A synthetase の機能を考慮すると脂質代謝への関与が想定され、尿細管細胞機能に非常に重要な蛋白質である可能性がある。*Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスに腎疾患モデルを組み合わせることにより、本研究の結果から尿細管細胞障害における新たな知見が得られる可能性がある。

また、この研究では基礎研究的な手法と臨床検体を用いた手法を組み合わせることによって ACSM2 の臨床応用の可能性も明らかにすることを目的とした。腎臓病患者中の ACSM2 の動態がわかれば、早期の腎障害を見つける検査マーカーや腎臓病の治療として ACSM2 が使用できる可能性がある。

本研究により、近位尿細管機能に関する新しい知見が得られ、脂質代謝に関する研究に大きな影響を与えることが期待される。また、本研究により ACSM2 が治療対象や重要なバイオマーカーになり得るかがわかり、直接的に腎臓病の臨床治療に影響を与える可能性もあると考えた (図)。



図：研究の概要

3. 研究の方法

(1) *Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスを用いた腎障害モデルの解析

ACSM2 の生体内での機能を明らかにするため *Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスを使用した。研究代表者は、本研究に先立ち、2020 年にバージニア大学医学部小児科、チャイルドヘルスリサーチセンター Gomez 研究室において、米国国立衛生研究所のプロジェクトとして以前に作成され解析されずに冷凍保存されていた *Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスの受精卵を回復させた。同マウスを新潟大学へ搬入し、体外受精、胚細胞移植を行い、繁殖させ、新潟大学医歯学総合研究科腎研究センター腎・膠原病内科分野での研究に使用した。

この *Acsm2* ノックアウトマウスに対して、各種の実験腎障害モデルの介入を行うことで、*Acsm2* 遺伝子の欠失によって腎臓の障害がどのように変化するかを観察した。

LPS 投与 24 時間後の急性腎障害モデル、葉酸投与 24 時間後の急性腎障害モデル、シスプラチン投与後 72 時間後の急性腎障害モデル、葉酸投与 14 日後の慢性腎障害モデルで検討を行った。

コントロール群と比較することで ACSM2 の欠損によって、腎障害がどのように変化するか、血液検査、腎障害マーカーの遺伝子発現、組織学的検査を用いて検討を行った。

(2) 臨床患者検体を用いた ACSM2 発現の解析

ACSM2 をどのように臨床的マーカーとして使用できるのか、将来的にどのように治療に役立てられるのかを明らかにするため、腎臓病患者の標本を用いて、生体内での ACSM2 発現が病態によりどのように変化するかを解析した。

新潟大学医歯学総合研究科腎研究センターに保存されている腎生検検体を使用して ACSM2 の免疫染色を行い、病歴、臨床所見、血液・尿検査所見との関連も含めて解析した。

4. 研究成果

(1) *Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスを用いた腎障害モデルの解析

① *Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスの樹立

新潟大学にて *Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスの繁殖に成功した。RT-PCR、免疫染色等にて、同マウスに ACSM2 が発現していないことを確認した。

Acsm2 遺伝子ノックアウトマウスの発生、腎臓の発達は、コントロールマウスと差が見られなかった。研究代表者らは *Acsm2* 遺伝子がマウスの生後の未熟な腎臓ではほとんど発現せず、成熟腎臓の近位尿細管細胞のみで高発現することを発見しており、上記はこれに矛盾しない結果であった。定常状態での成熟した *Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスの形質を解析したところ、体重、腎組織所見、腎機能はコントロールと同等であった。

② 腎障害モデルの確立

LPS 投与、シスプラチン投与、葉酸投与による急性腎障害モデルを確立した。野生型マウスを用いた検討で、これらすべての急性腎障害において、腎臓の近位尿細管における ACSM2 の発現が低下していることがわかった。

③ *Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスでの腎障害

Acsm2 遺伝子ノックアウトマウスに急性腎障害を生じさせたところ、腎機能の低下はコントロール群と差は認められなかった。腎臓内でどのような遺伝子発現の変化が生じているかなどについて、今後解析していく予定である。

一方、葉酸投与 14 日後の慢性腎障害モデルにおいて、*Acsm2* 遺伝子ノックアウトマウスでは、コントロールマウスと比べて障害が重度であった。血液検査で腎機能の低下、腎臓組織における尿細管・間質障害の悪化を認めた。ACSM2 が急性腎障害後の回復の過程に影響を与えていると考えられた。このモデルにおける ACSM2 の機能・メカニズムについてさらに詳細な解析を行っていく予定である。

(2) 臨床患者検体を用いた ACSM2 発現の解析

様々な腎臓病患者の腎生検検体において、近位尿細管の ACSM2 の発現が正常腎（生体腎移植ドナー腎）と比較して低下していることが明らかになった。現在、腎臓組織における、ACSM2 の発現の変化が、その後の腎疾患の進展や腎機能の変化にどのように関連しているかを解析している。

本研究から、近位尿細管に特異的に発現する ACSM2 の発現が腎臓の障害に伴い低下すること、腎障害からの回復に ACSM2 が重要な役割を担っている可能性が明らかになった。今後のさらなる研究により、ACSM2 は腎臓病診療での治療のターゲットや臨床的に有用なバイオマーカーとなり得る可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Watanabe Hirofumi, Martini Alexandre G., Brown Evan A., Liang Xiuyin, Medrano Silvia, Goto Shin, Narita Ichiei, Arend Lois J., Sequeira-Lopez Maria Luisa S., Gomez R. Ariel | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Inhibition of the renin-angiotensin system causes concentric hypertrophy of renal arterioles in mice and humans | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 JCI Insight | 6. 最初と最後の頁 e154337 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/jci.insight.154337 | 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 Nakagawa Yusuke, Kaseda Ryohei, Suzuki Yuya, Watanabe Hirofumi, Otsuka Tadashi, Yamamoto Suguru, Kaneko Yoshikatsu, Goto Shin, Terada Yasuhiko, Haishi Tomoyuki, Sasaki Susumu, Narita Ichiei | 4. 巻 4 |
| 2. 論文標題 Sodium Magnetic Resonance Imaging Shows Impairment of the Counter-current Multiplication System in Diabetic Mice Kidney | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Kidney360 | 6. 最初と最後の頁 582 ~ 590 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.34067/KID.0000000000000072 | 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 Suzuki Yuya, Otsuka Tadashi, Yoshioka Yuki, Iida Tomomichi, Maruyama Shingo, Watanabe Hirofumi, Kaseda Ryohei, Yamamoto Suguru, Kaneko Yoshikatsu, Goto Shin, Aoyagi Ryuji, Narita Ichiei | 4. 巻 27 |
| 2. 論文標題 Assessing fluid volume and determining outcomes of acute heart failure using plasma human atrial natriuretic peptide | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Clinical and Experimental Nephrology | 6. 最初と最後の頁 565 ~ 573 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10157-023-02333-1 | 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 Watanabe Hirofumi, Goto Shin, Hosojima Michihiro, Kabasawa Hideyuki, Imai Naofumi, Ito Yumi, Narita Ichiei | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Pathogenic variants of Alport syndrome and monogenic diabetes identified by exome sequencing in a family | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Human Genome Variation | 6. 最初と最後の頁 5 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41439-023-00233-0 | 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2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Hirofumi Watanabe |
| 2. 発表標題 Renin Cell Baroreceptor, a Nuclear Mechanotransducer Central for Homeostasis |
| 3. 学会等名 第65回日本腎臓学会学術総会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 渡辺博文, 後藤眞, 細島康宏, 成田一衛 |
| 2. 発表標題 エクソーム解析により新規変異を同定した Alport 症候群と家族性若年糖尿病の一家系 |
| 3. 学会等名 第65回日本腎臓学会学術総会 |
| 4. 発表年 2022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 | | |
|---------|---------|--|--|
| 米国 | バージニア大学 | | |