

研究助成 2015—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科
氏 名	三村 維真理
研究テーマ	慢性腎臓病の抑制をもたらす新規 miRNA の同定とその分子メカニズムの解明

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は 1 ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

【研究の背景】日本の人口の高齢化と長寿化に伴って生活習慣病を中心とした様々な疾病が近年急速に増加し、日本の医療費を圧迫している。慢性腎臓病(CKD: chronic kidney disease)と呼ばれる腎機能障害もその一つで、特に高齢者を中心に患者数が増加している。CKD 患者は全国で 1300 万人以上いると言われており、これらの患者の慢性腎不全の進行を食い止める新たな治療法を見つけることは急務である。CKD の進行には糸球体硬化や腎細動脈の動脈硬化など様々な誘因があるが、腎尿細管間質領域の慢性的な低酸素状態が増悪に寄与することが多くのグループから報告されてきた(Mimura I, Nangaku M. Nat Rev Nephrol, 2010)。

【研究の目的】

ヒストンの抑制系修飾であるヒストン H3 のテイル部分の 27 番目のリジン(K)基がトリメチル化された(H3K27me3)修飾はヒストン修飾酵素の一つである Ezh2 を含むポリコム複合体(Polycomb)がその修飾に関与することが知られている。今回はヒストン修飾酵素を阻害する薬剤の中で、Dznep の果たす役割について着目した。Dznep は Ezh2 を阻害することにより H3K27me3 マークを除去し、特定の遺伝子発現を亢進させる役割があると報告されているが、その詳細な作用メカニズム、特に in vivo における機序については明らかでない。腎尿細管間質の低酸素状態に伴う線維化のメカニズムに対してヒストン修飾酵素 Ezh2 を含むポリコム複合体が in vivo でどのような役割を果たすのか、そしてその阻害薬 Dznep 投与による影響については全く不明である。そこで、今回は Dznep が in vivo で腎尿細管間質の線維化の進行に与える影響について調べ、解析することを目的として以下の実験をおこなった。

【実験結果および成果】

① 今回の実験では、In vivo での Dznep の役割を明らかにするため腎不全モデルの一つである虚血再灌流障害モデル(Ischemia /Reperfusion: I/R)マウスに対して Dznep を投与する実験を行った。腎臓は様々な種類の細胞が集合した複雑な臓器であり、多様性が著しい。その中でも特に腎臓の 9 割以上を占める尿細管細胞の役割を明らかにするため、Laser Capture Microdissection(LCM)という手法により、腎尿細管細胞のみを切り出した。すなわち in vivo から採取した尿細管細胞のみから RNA を抽出し、遺伝子群の発現パターンを高速シーケンサーを用いて網羅解析(RNA-seq)した。その結果、発現変動の大きかった約 500 個の遺伝子群の発現を 3 つのパターンに分類することができた。すなわち、Vehicle を投与したマウスの I/R モデルをおこなっていない対側の腎臓で発現が最も高くなる Group1、Dznep を投与したマウスの I/R モデルを行った患側の腎臓で発現が最も高くなる Group2、Vehicle を投与したマウスの I/R モデルを行った患側の腎臓で発現が最も高くなる Group3 である。特に Group3 に含まれる遺伝子群では、I/R 障害により発現が高くなった遺伝子群のうち、Dznep を投与したことにより発現が抑制される遺伝子群が含まれていた。その中には Collagen type III alpha 1 などの線維化に関連する遺伝子群が含まれていることを見出した。

② さらに、①で同定した遺伝子群を標的として、Dznep により線維化の進行を抑制する働きを持つエピジェネティックな因子を同定するため、尿細管の培養細胞株を用いて small RNA-seq を行った。すなわち、HK2(human kidney-2)および RPTEC(renal proximal tubular epithelial cells)を用いて、これらの細胞を低酸素刺激に暴露したうえで Dznep を投与した際に発現が変動する遺伝子群を網羅的に解析した。その結果、HK2 細胞ではおよそ 190 個の遺伝子群が HK2 細胞特異的に Dznep を投与することで発現が抑制された。RPTEC 細胞ではおよそ 1300 個の遺伝子群が RPTEC 細胞特異的に Dznep を投与することにより発現が抑制された。また、およそ 150 個の遺伝子群では HK2 細胞および RPTEC 細胞に共通して Dznep を投与することにより発現が抑制されることを見出した。

研究助成 2015—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>

所	属	東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科
氏	名	三村 維真理

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。 国内外雑誌を問わない。 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。
1	Nangaku M, Hirakawa Y, <u>Mimura I</u> , Inagi R, Tanaka T. Epigenetic Changes in the Acute Kidney Injury-to-Chronic Kidney Disease. Nephron. 2017. Jun 9. Epub ahead of print. 査読有
2	<u>Mimura I</u> , Hirakawa Y, Kanki Y, Kushida N, Nakaki R, Suzuki Y, Tanaka T, Aburatani H, Nangaku M. Novel lncRNA regulated by HIF-1 inhibits apoptotic cell death in the renal tubular epithelial cells under hypoxia. Physiol Rep. 2017; 5(8). 査読有
3	Kushida N, Nomura S, <u>Mimura I</u> , Fujita T, Yamamoto S, Nangaku M, Aburatani H. Hypoxia-inducible Factor-1 α activates the transforming growth factor- β /SMAD3 pathway in kidney tubular epithelial cells. Am J Nephrol. 2016; 44(4):276-285. 査読有
4	<u>Mimura I</u> , Tanaka T, Nangaku M. New Insights into molecular mechanisms of epigenetic regulation in kidney disease. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2016. 43(12):1159-1167. Review. 査読有
5	Hirakawa Y, Yoshihara T, Kamiya M, <u>Mimura I</u> , Fujikura D, Masuda T, Kikuchi R, Takahashi I, Urano Y, Tobita S, Nangaku M. Quantitating intracellular oxygen tension in vivo by phosphorescence lifetime measurement. Sci Rep. 2015. 8;5:17838. 査読有
6	<u>Mimura I</u> , Tanaka T, Nangaku M. How the target hemoglobin of renal anemia should be? Nephron. 2015. 131(3): 202-9. 査読有
7	<u>Mimura I</u> . Evolution of epigenetics in kidney diseases. Nihon Jinzo Gakkai Shi.;57(1):241-7. 2015. 査読有
8	Nangaku M, Inagi R, <u>Mimura I</u> , Tanaka T. Epigenetic Changes Induced by Hypoxia-Inducible Factor: a Long Way Still To Go as a Target for Therapy? J Am Soc Nephrol. 26(7): 1478-80, 2015. 査読有
9	Nangaku M, <u>Mimura I</u> , Yamaguchi J, Higashijima Y, Wada T, Tanaka T. Role of Uremic Toxins in Erythropoiesis-Stimulating Agent Resistance in Chronic Kidney Disease and Dialysis Patients. J Ren Nutr. 25(2):160-163. 2015. 査読有
10	Khamaisi M, Toukan H, Axelrod JH, Rosenberger C, Skarzinski G, Shina A, Meidan R, Koesters R, Rosen S, Walkinshaw G, <u>Mimura I</u> , Nangaku M, Heyman SN. Endothelin-converting enzyme is a plausible target gene for hypoxia-inducible factor. Kidney Int. 87(4):761-70. 2015. 査読有
11	Kawakami T, <u>Mimura I</u> , Shoji K, Tanaka T, Nangaku M. Hypoxia and fibrosis in chronic kidney disease: crossing at pericytes. Kidney Int Suppl (2011). 4(1):107-112. 2014. 査読有

12	<p><u>Mimura I</u>, Nangaku M. Epigenetics in kidney diseases. Rinsho Byori. Feb;62(2):180-9, 2014. 査読有</p>
13	<p>Maejima T, Inoue T, Kanki Y, Li G, Ohta Y, Kimura H, Kobayashi M, Taguchi A, Tsutsumi S, Iwanari H, Yamamoto S, Aruga H, Dong S, Stenvens JF, Poh HM, Yamamoto K, Kawamura T, <u>Mimura I</u>, Suehiro J, Sugiyama A, Kaneki K, et al. Direct Evidence for Pitavastatin Induced</p>
14	<p>Inoue T, Kohro T, Tanaka T, Kanki Y, Li G, Poh HM, <u>Mimura I</u>, et al. Cross-enhancement of ANGPTL4 transcription by HIF1 alpha and PPAR beta/delta is the result of the conformational proximity of two response elements. Genome Biol. 15(4):R63. 2014. 査読有</p>
15	<p><u>Mimura I</u>, Kanki Y, Kodama T, Nangaku M. Revolution of nephrology research by deep sequencing: ChIP-seq and RNA-seq. Kidney Int. 85(1):31-8, 2014. 査読有</p>

様

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 国内外を問わない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2017年5月	第60回日本腎臓学会学術総会 三村維真理、平川陽亮、串田夏樹、神吉康晴、鈴木穰、田中哲洋、油谷浩幸、南学正臣「低酸素下においてHIF1に制御され細胞死を抑制する新規 lncRNA の同定」
2	2016年12月	第39回日本分子生物学会 三村維真理、平川陽亮、神吉康晴、鈴木穰、田中哲洋、油谷浩幸、南学正臣「腎尿細管間質の線維化を抑制する新規 microRNA の同定」公募シンポジウムおよびポスター発表
3	2016年12月	第39回日本分子生物学会 平川陽亮、吉原利忠、三村維真理、飛田成史、南学正臣「りん光寿命測定を用いた尿中酸素分圧測定法の確立」
4	2016年11月	American Society of Nephrology. Imari Mimura, Yosuke Hirakawa, Natsuki Kushida, Yasuharu Kanki, Yutaka Suzuki, Hiroyuki Aburatani, Masaomi Nangaku. Novel non-coding RNA regulated by HIF-1 suppresses apoptosis in renal tubular epithelial cells.
5	2016年11月	American Society of Nephrology. Imari Mimura, Yosuke Hirakawa, Yasuharu Kanki, Yutaka Suzuki, Hiroyuki Aburatani, Masaomi Nangaku. Dznep ameliorates tubulointerstitial fibrosis via reduction of TIMP2.
6	2016年9月	Asian Pacific Congress of Nephrology. Imari Mimura, Yosuke Hirakawa, Yasuharu Kanki, Yutaka Suzuki, Hiroyuki Aburatani, Masaomi Nangaku. Identification of novel microRNAs to inhibit tubulointerstitial fibrosis.
7	2016年6月	第59回日本腎臓学会総会 三村維真理、平川陽亮、神吉康晴、鈴木穰、油谷浩幸、南学正臣「腎尿細管間質の線維化を抑制する新規 microRNA の同定」
8	2016年6月	第59回日本腎臓学会総会 三村維真理「腎エピジェネティクス」招待講演
9	2016年6月	第61回日本透析医学会総会 三村維真理、南学正臣「腎不全をエピジェネティックな分子メカニズムから解明する」招待講演
10	2016年1月	第17回神田川腎セミナー 三村維真理「腎臓領域におけるエピジェネティクスの進展」
11	2015年12月	第38回日本分子生物学会 串田夏樹、野村征太郎、藤田隆教、三村維真理、南学正臣、油谷浩幸「低酸素と TGF-βは、下流にある IGFBP3 を介して、尿細管上皮細胞に apoptosis を誘導する」
12	2015年12月	第38回日本分子生物学会 平川陽亮、吉原利忠、神谷真子、三村維真理、田中真司、田中哲洋、浦野泰照、飛田成史、南学正臣「りん光寿命測定を用いた腎臓尿細管細胞内酸素分圧の測定」
13	2015年11月	American Society of Nephrology. Yosuke, Hirakawa, Imari, Mimura, Toshitada, Yoshihara, Mako, Kamiya, Yasuteru, Urano, Seiji, Tobita, Masaomi, Nangaku. Quantitating intracellular oxygen tension in kidney by phosphorescence lifetime measurement.
14	2015年10月	Keystone Symposia KYOTO. Yosuke Hirakawa, Imari Mimura, Toshitada Yoshihara, Mako Kamiya, Shinji Tanaka, Tetsuhiro Tanaka, Reiko Inagi, Yasuteru Urano, Seiji Tobita, Masaomi Nangaku. Estimation of intracellular oxygen concentration in diabetic kidney by phosphorescence lifetime measurement.

15	2015年6月	第58回日本腎臓学会総会 平川陽亮、三村維真理、吉原利忠、神谷真子、浦野泰照、飛田成史、南学正臣「りん光寿命測定を用いた腎の低酸素の検出と定量化」
16	2014年11月	第37回日本分子生物学会ワークショップ 三村維真理「慢性腎臓病の進展とエピゲノム~低酸素刺激によるクロマチン立体構造変化」招待講演
17	2014年7月	第57回日本腎臓学会総会 ワークショップ 三村維真理「慢性腎臓病の進展とエピゲノム~低酸素刺激によるクロマチン立体構造変化」招待講演
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2017年12月	第40回日本分子生物学会総会
2		
3		
4		