

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 5 年 5 月 1 7 日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16160

研究課題名（和文）腎・尿路細菌叢および関連ペプチドが腎線維化に与える影響の解明

研究課題名（英文）The role of renal and urethral flora and related peptides in renal fibrosis

研究代表者

西濱 康太（Nishihama, Kota）

三重大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90832527

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000 円

研究成果の概要（和文）：細菌由来ペプチドであるcorisinを投与した腎線維症モデルマウスでは対象群と比較して尿中アルブミン排泄量が増加し、病理検査では糸球体及び尿細管間質線維化の進行が示唆された。これらの結果は、腎線維症モデルマウスにおいて corisinが腎線維化を促進していることを示唆する。また、in vitro実験ではcorisinおよびcorisin-likeペプチドによりPodocyteおよびCaki-2細胞にアポトーシスが誘導され、TGF-とcorisinの共刺激ではアポトーシスの誘導が増強された。これらの結果はcorisinが腎臓由来の細胞のアポトーシスの誘導に関与していることを示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全ての腎疾患は末期腎不全に至る過程で腎線維化を伴うため、腎線維化の発生機序の解明と進行抑制は腎疾患の治療法の開発における重要な標的となる。今回の研究成果は常在細菌叢のマネジメントを通じて臓器線維化の進行の予測や進行の抑制を目指す新しい治療戦略につながるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In mice treated with the microbiota-derived peptide corisin, urinary albumin excretion was increased in the renal fibrosis model compared to the control group, and pathological examination suggested progressive glomerular and tubulointerstitial fibrosis. These results suggest that corisin promotes renal fibrosis in the mouse model of renal fibrosis. In vitro experiments also showed that corisin and corisin-like peptides induced apoptosis in podocyte and Caki-2 cells, and co-stimulation with TGF- and corisin enhanced apoptosis induction. These results suggest that corisin is involved in the induction of apoptosis in kidney-derived cells.

研究分野：代謝内分泌内科学

キーワード：腎線維化 細菌叢

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病(CKD)は、日本人成人の約8人に1人が発症する国民病であり、糖尿病、高血圧、慢性糸球体腎炎など様々な疾患が原因となる。原疾患の治療以外に有効な治療法が確立されていないため、慢性腎臓病は不可逆的に進行することが多く、腎代替療法を必要とする末期腎不全患者数は増加の一途をたどっている。腎不全患者数の増加は医療経済的にも大きな問題となっており、その進行を抑制する治療法の開発は喫緊の課題である。全ての腎疾患は末期腎不全に至る過程で腎線維化を伴うため、腎線維化の発生機序の解明と進行抑制は腎疾患の治療法の開発における重要な標的となる。

これまでに我々は臓器線維化メカニズムについての研究を行っており、肺特異的 TGF- β マウスにおいて肺線維化が進行し、その機序に気道常在菌及び常在菌の定着条件と想定される生体環境の差異が関与することや、細菌由来ペプチドである corisin を同定し、corisin がアポトーシスを誘導することで肺線維化に関与することを明らかにした。これらの研究結果は TGF- β を介した腎線維化に腎・尿路系の常在菌及びその産生ペプチドが関与する可能性を示唆している。腎・尿路における常在菌の差異が腎障害の進行速度に影響を与えることを示すことは、高リスク患者の同定や、腎線維化の進行抑制に有効な新しい治療法の確立においても大きな役割を果たすと考えられる。

2. 研究の目的

腎特異的 TGF- β 過剰発現トランスジェニックマウス(TGF- β マウス)および腎細胞株を用いて、腎線維化の進行に細菌由来ペプチドが関与していることを明らかにする。

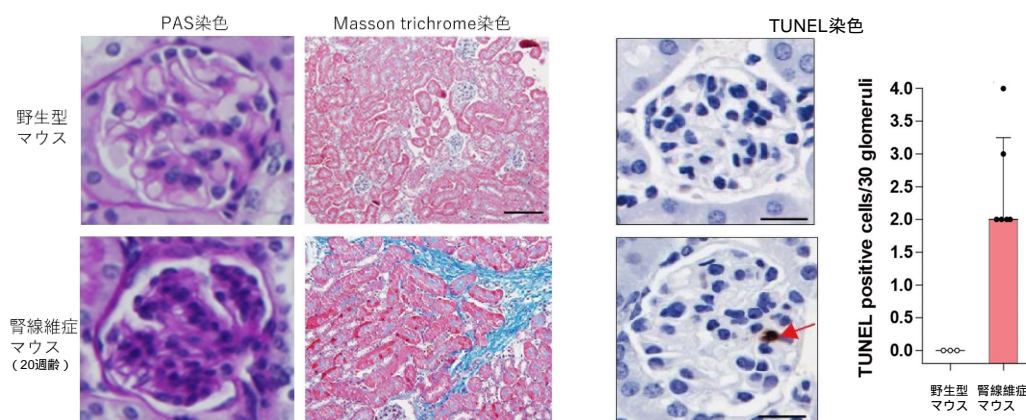
3. 研究の方法

In vivo 実験として、野生型マウス(WT)と腎線維症モデルマウスである TGF- β マウス間で corisin の産生状況に差があることを確認する。また、野生型マウス(WT)および腎特異的 TGF- β マウスに corisin もしくは Scrambled ペプチドを投与し、腎障害の程度を比較する。評価項目としては、血中クレアチニン濃度、尿中アルブミン排泄量に加え、組織学的な腎機能障害の評価を行う。

In vitro 実験として、腎臓由来の細胞株である Podocyte および caki-2 細胞に対して corisin および corisin-like peptide で刺激し、アポトーシスの誘導状況を確認する。また、既知のアポトーシス誘導物質である TGF- β と corisin の共刺激がアポトーシスの誘導を促進するかどうかを確認する。

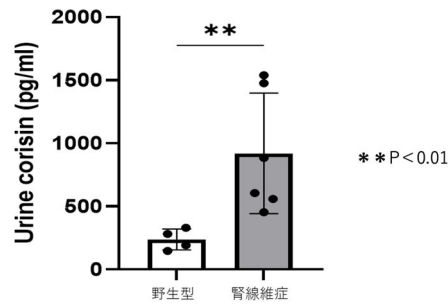
4. 研究成果

腎線維症モデルマウスである TGF- β マウスでは腎線維化に加え糸球体でのアポトーシス細胞が増加していることが確認されているが(図1)、TGF- β マウスでは尿中 corisin 濃度が上昇していることが確認され、TGF- β マウスの腎機能障害に corisin が関与している可能性が示唆された(図2)。



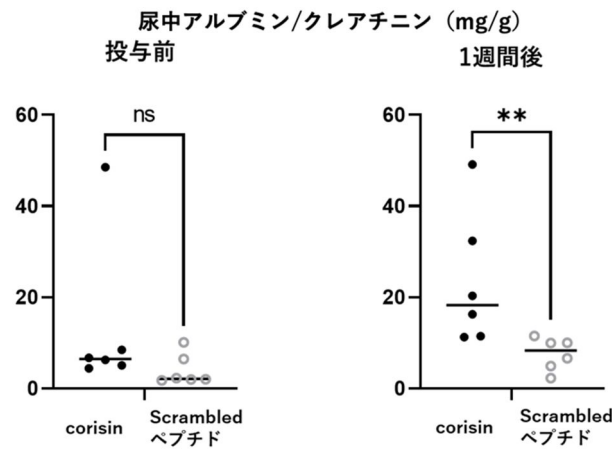
(図1) 腎線維症モデルマウスでは腎臓の線維化が進行し、糸球体内のアポトーシス細胞が増加している

ヒトTGF β 1過剰発現慢性腎不全マウス
(12週齢)



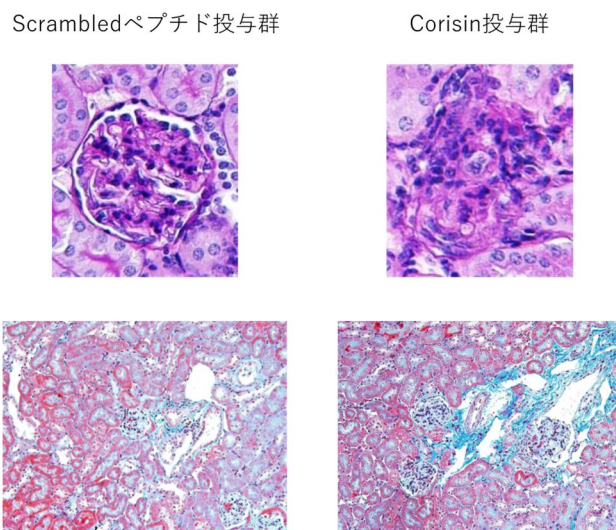
(図2) 腎線維症モデルマウスである TGF β 1-TG マウスで尿中 corisin 濃度が上昇している

corisin を投与した TGF β 1-TG マウスでは corisin 非投与マウス(対象群)と比較して尿中アルブミン排泄量が有意に上昇し、病理検査でも対象群と比較して糸球体及び尿細管間質線維化の進行が示唆された(図3)。これらの結果は、腎線維症モデルマウスにおいて corisin が腎線維化を促進していることを示唆している。



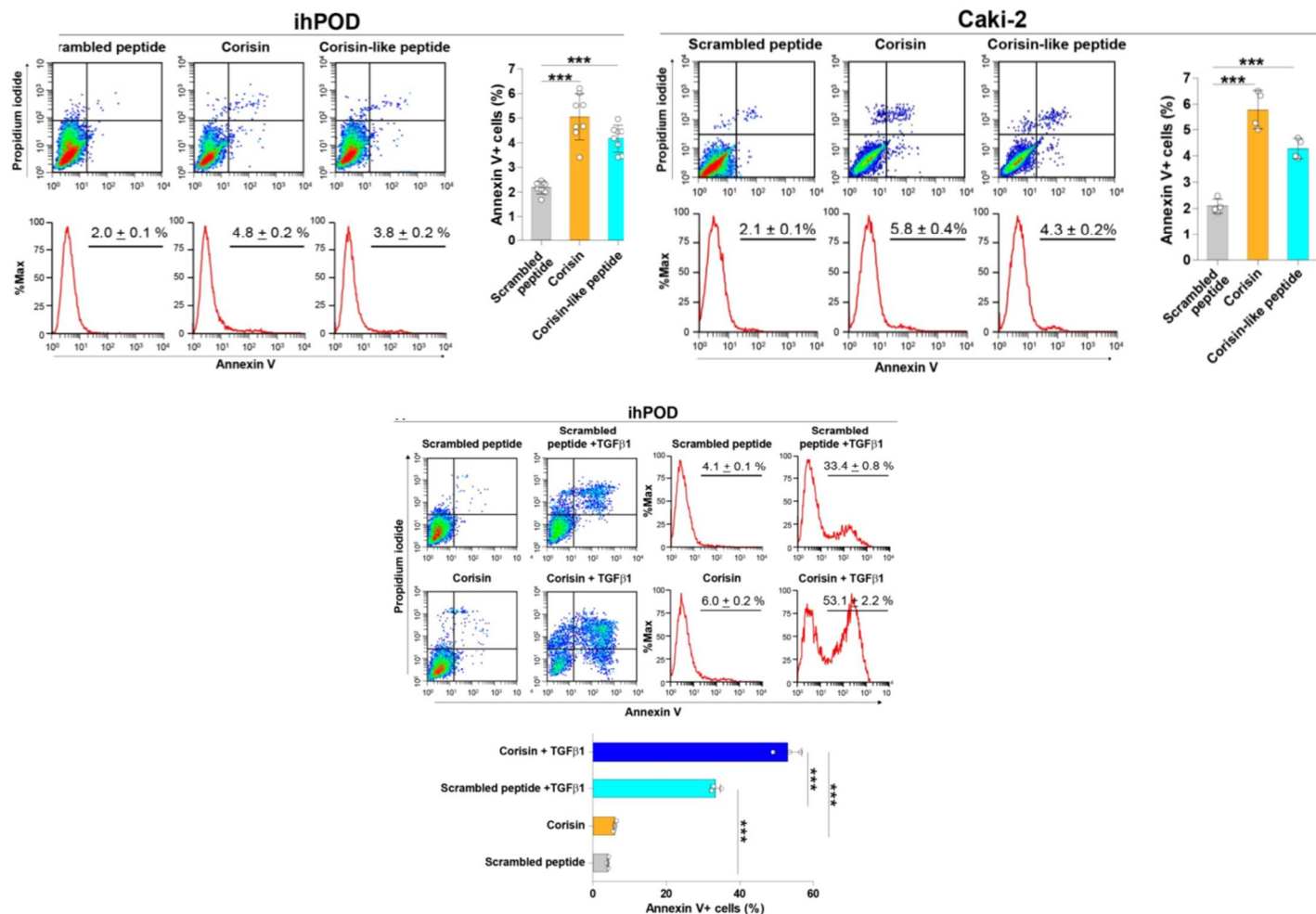
(図3) corisin を投与した TGF β 1-TG マウスでは corisin 非投与マウス(対象群)と比較して尿中アルブミン排泄量が増加している (*p<0.05)

また、corisin を投与した TGF β 1-TG マウスではメサングウム領域の拡大や尿細管間質の線維化の進行が示唆された(図4)。



(図4) Corisin 投与により TGF β 1-TG マウスの腎線維化が促進されることが示唆された

In vitro 実験では corisin および corisin-like ペプチドにより Podocyte および Caki-2 細胞にアポトーシスが誘導され、TGF- β と corisin の共刺激ではアポトーシスの誘導が増強された。これらの結果は corisin が腎臓由来の細胞のアポトーシスの誘導に関与していることを示唆している (図 5)。



(図 5) Corisin および類似配列を持つ corisin-like ペプチド処理により Podocyte (ihPOD) および Caki-2 細胞のアポトーシスが誘導された (上段)。Corisin と TGF- β の共刺激はアポトーシスの誘導を増強した (下段)。

また、TGF- β の関与した急性肺障害および肺線維化の病態に corisin が関与していることと、corisin 抗体の投与によりこれらの病態が改善することも確認され、corisin の制御は腎臓を含む臓器の線維化の進行を抑制することが期待される。

一方で、ヒトにおける corisin と腎障害の関連の有無を確認するために、糖尿病腎症患者の血中 corisin、尿中 corisin および corisin 関連物質と腎機能障害に関する相関関係を検討する準備を進めているが、新型コロナウイルスの感染拡大に伴う患者の受診行動の変化により、計画当初に想定していた登録患者数に達するまでに時間を要している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 D'Alessandro Valeria Fridman, Takeshita Atsuro, Yasuma Taro, Toda Masaaki, D'Alessandro-Gabazza Corina N., Okano Yuko, Tharavecharak Suphachai, Inoue Chisa, Nishihama Kota, Fujimoto Hajime, Kobayashi Tetsu, Yano Yutaka, Gabazza Esteban C.	4. 巻 23
2. 論文標題 Transforming Growth Factor 1 Overexpression Is Associated with Insulin Resistance and Rapidly Progressive Kidney Fibrosis under Diabetic Conditions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 14265 ~ 14265
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms232214265	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 Yoshihara Akihiro, Nishihama Kota, Inoue Chisa, Okano Yuko, Eguchi Kazuhito, Tanaka Soichiro, Maki Kanako, Fridman D'Alessandro Valeria, Takeshita Atsuro, Yasuma Taro, Uemura Mei, Suzuki Toshinari, Gabazza Esteban C, Yano Yutaka	4. 巻 10
2. 論文標題 Adrenocorticotrophic hormone-secreting pancreatic neuroendocrine carcinoma with multiple organ infections and widespread thrombosis: A case report	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 World Journal of Clinical Cases	6. 最初と最後の頁 5723 ~ 5731
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.12998/wjcc.v10.i17.5723	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 D'Alessandro-Gabazza CN, Yasuma T, Kobayashi T, Toda M, Abdel-Hamid AM, Fujimoto H, Hataji O, Nakahara H, Takeshita A, Nishihama K et al.	4. 巻 13
2. 論文標題 Inhibition of lung microbiota-derived proapoptotic peptides ameliorates acute exacerbation of pulmonary fibrosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1558
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-022-29064-3	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 D'Alessandro Valeria Fridman, D'Alessandro-Gabazza Corina N., Yasuma Taro, Toda Masaaki, Takeshita Atsuro, Tomaru Atsushi, Tharavecharak Suphachai, Lasisi Isaiah O., Hess Rebecca Y., Nishihama Kota, Fujimoto Hajime, Kobayashi Tetsu, Cann Isaac, Gabazza Esteban C.	4. 巻 -
2. 論文標題 Inhibition of a Microbiota-Derived Peptide Ameliorates Established Acute Lung Injury	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The American Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ajpath.2023.03.003	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 Inoue Chisa, Yasuma Taro, D'Alessandro-Gabazza Corina N., Toda Masaaki, Fridman D'Alessandro Valeria, Inoue Ryo, Fujimoto Hajime, Kobori Hajime, Tharavecharak Suphachai, Takeshita Atsuro, Nishihama Kota, Okano Yuko, Wu Jing, Kobayashi Tetsu, Yano Yutaka, Kawagishi Hirokazu, Gabazza Esteban C.	4. 巻 11
2. 論文標題 The Fairy Chemical Imidazole-4-carboxamide Inhibits the Expression of Axl, PD-L1, and PD-L2 and Improves Response to Cisplatin in Melanoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 374 ~ 374
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells11030374	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 Inoue Chisa, Nishihama Kota, Hayasaki Aoi, Okano Yuko, Hayashi Akinobu, Eguchi Kazuhito, Uemura Mei, Suzuki Toshinari, Yasuma Taro, Inoue Takeshi, Yorifuji Tohru, Mizuno Shugo, Gabazza Esteban C., Yano Yutaka	4. 巻 12
2. 論文標題 Case Report: A Difficult-to-Diagnose Case of Hyperinsulinemic Hypoglycemia Surgically Treated After Developing Acute Pancreatitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fendo.2021.731071	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 Uchida Akihiro, Yasuma Taro, Takeshita Atsuro, Toda Masaaki, Okano Yuko, Nishihama Kota, D'Alessandro-Gabazza Corina N, Fridman D'Alessandro Valeria, Inoue Chisa, Takagi Takehiro, Mukaiyama Hiroyuki, Takagi Norio, Shimizu Katsumi, Yano Yutaka, Gabazza Esteban C	4. 巻 Volume 14
2. 論文標題 Oral Limonite Supplement Ameliorates Glucose Intolerance in Diabetic and Obese Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Inflammation Research	6. 最初と最後の頁 3089 ~ 3105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/JIR.S320451	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 Yasuma Taro, Okano Yuko, Tanaka Soichiro, Nishihama Kota, Eguchi Kazuhito, Inoue Chisa, Maki Kanako, Uchida Akihiro, Uemura Mei, Suzuki Toshinari, D'Alessandro-Gabazza Corina N, Gabazza Esteban C, Yano Yutaka	4. 巻 9
2. 論文標題 Sodium-glucose co-transporter-2 inhibitor-associated euglycemic diabetic ketoacidosis that prompted the diagnosis of fulminant type-1 diabetes: A case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 World Journal of Clinical Cases	6. 最初と最後の頁 3163 ~ 3169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12998/wjcc.v9.i13.3163	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7件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1．発表者名 Yuko Okano, Chisa Inoue, Valeria Fridman, Atsuro Takeshita, Kota Nishihama, Taro Yasuma, Masaaki Toda, Corina Gabazza, Yutaka Yano, Esteban Gabazza
2．発表標題 Protective effect of Recombinant Human Thrombomodulin on Streptozocin-induced diabetes
3．学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4．発表年 2022年

1．発表者名 Atsuro Takeshita, Chisa Inoue, Yuko Okano, Kota Nishihama, Taro Yasuma, Valeria Fridman D' Alessandro, Masaaki Toda, Corina N. D' Alessandro-Gabazza, Yutaka Yano, Esteban Gabazza
2．発表標題 Recombinant thrombomodulin ameliorates diabetes by inhibition of pancreatic cell apoptosis
3．学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4．発表年 2022年

1．発表者名 安間太郎、井上知紗、岡野優子、竹下敦郎、西濱康太、上村明、鈴木俊成、ガバザコリナ、戸田雅昭、ガバザエステバン、矢野裕
2．発表標題 遺伝子改変慢性腎不全マウスを用いた細菌由来ペプチドcorisinの腎に対する影響の検討
3．学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4．発表年 2022年

1．発表者名 西濱康太、竹下敦郎、安間太郎、岡野優子、井上知紗、フリドマンバレリア、ガバザコリナ、戸田雅昭、ガバザエステバン、矢野裕
2．発表標題 糖尿病性腎症にマトリックスメタロプロテイナーゼ2が与える影響についての検討
3．学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4．発表年 2022年

1. 発表者名 内田 明宏 , 竹下 敦郎, 岡野 優子 , 西濱 康太 , 安間 太郎 , ガバサ コリーナ , 戸田 雅昭 , 矢野 裕 , ガバサ エステバン
2. 発表標題 腎線維症に対するトロンボモジュリンの抗炎症作用の検討
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹下 敦郎, 内田 明宏 , 岡野 優子, 西濱 康太 , 安間 太郎 , ガバザ コリナ , 戸田 雅昭 , 矢野 裕 , ガバザ エステバン
2. 発表標題 トロンボモジュリンによる腎細胞保護効果の検証
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡野 優子, 内田 明宏 , 竹下 敦郎, 西濱 康太 , 安間 太郎 , ガバザ コリーナ , 戸田 雅昭 , 矢野 裕 , ガバザ エステバン
2. 発表標題 トロンボモジュリンのストレプトゾトシン誘発糖尿病に対する効果の検討
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021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
---------	---------