

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09424

研究課題名(和文)尿細管上皮細胞における甲状腺ホルモン受容体の作用の解明

研究課題名(英文)Thyroid hormone receptor protects against kidney injury by inhibiting tubular cell apoptosis

研究代表者

古屋 文彦(FURUYA, Fumihiko)

山梨大学・大学院総合研究部・講師

研究者番号：90456450

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：尿細管上皮細胞内でのROSの蓄積は、炎症性サイトカインの発現を増加し、尿細管間質での線維芽細胞の活性化や腎線維化の原因となる。野生型(WT)マウスとTR欠損マウスで片側尿管結紮(UUO)モデルを作成し、遺伝子発現レベルの網羅的解析をDNAマイクロアレイによって検討した。リポカリン2、コラーゲン12、ファイブロネクチンは、非UUOモデルではWTマウスとTR欠損マウス腎臓で有意差は見られなかったが、UUOモデルでは発現増加がTR欠損マウス腎臓で見られ、尿細管間質の線維化が増加していた。本結果から、内因性TRは腎尿細管間質において、抗炎症作用や抗線維化作用を有している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Compared with wild type mice, TR-deficient irradiated chimeric mice showed exacerbated tubulointerstitial injury in the unilateral ureteral obstruction (UUO) model and macrophages isolated from obstructed kidneys of mice lacking TR displayed increased expression of proinflammatory cytokines such as IL-1. In bone marrow-derived macrophages from wild type mice, T3-depleted culture medium augmented the phosphorylation of I $\kappa$ B and enhanced the translocation of p65 to the nucleus via a MAPK/MAPK phosphatase pathway. TR-deficient macrophages also increased the release of proinflammatory cytokines that was accompanied by increased nuclear translocation of p65 compared to wild type macrophages. Comparison of TR-deficient bone marrow-derived macrophages with wild-type macrophages confirmed the propensity of these cells to produce exaggerated levels of IL-1, and their co-culture with renal epithelial cells induced more severe damage to the epithelial cells.

研究分野：内分泌学

キーワード：慢性炎症

### 1. 研究開始当初の背景

本邦の eGFR60 未満の慢性腎臓病(CKD)患者は全人口の 10%超に上るとされる。CKD は透析療法を必要とする末期腎不全の危険因子であることに加えて、高率に心血管疾患を発症し、生命予後を悪化させることが知られている。糖尿病性腎症や、高血圧・動脈硬化に起因する腎硬化症、慢性糸球体腎炎が CKD の基礎疾患の約 90%以上を占めるが、いずれの疾患においても、糸球体硬化や尿細管間質の線維化といった形態変化が腎機能の悪化や腎予後に影響している。

### 2. 研究の目的

糖尿病性腎症や糸球体腎炎で見られる糸球体上皮細胞(ポドサイト)障害は糸球体濾過バリアを破綻させ、尿中蛋白を増加させる。近位尿細管では水、電解質、アミノ酸などの溶質の再吸収が行われているが、尿中蛋白量の増加は低蛋白血症や再吸収負荷を増加させ、近位尿細管上皮細胞内の小胞体(ER)ストレスの蓄積と細胞死の原因となる。in vitro の培養尿細管上皮細胞でも、アルブミン添加は、細胞中の活性酸素(ROS)の増加、MAP キナーゼの活性化、NF- $\kappa$ B 経路の活性化を介して血管作動性、線維化促進性遺伝子の発現を誘導され、細胞死を起こすことが知られている(1)が、そのメカニズムについては明らかでない点も多い。そのメカニズムが明らかになることで新たな検査方法や治療法の開発への応用が期待された。

### 3. 研究の方法

尿細管上皮細胞内の ROS の蓄積は、炎症性サイトカインの発現を増加し、間質の線維芽細胞の活性化や腎線維化の原因となる。TR 欠損マウスにおいて、糖尿病発症や糸球体障害、尿細管間質障害を惹起した際の腎間質の線維化や細胞障害に関与する遺伝子の発現量とその機序を解析した

### 4. 研究成果

尿細管上皮細胞内での ROS の蓄積は、NF B、IL-6、TGF- $\beta$  などの炎症性サイトカインの発現を増加し、尿細管間質での線維芽細胞の活性化や腎線維化の原因の一つとなる。内因性 TR 蛋白は、細胞内において ROS を低下させ、抗ストレス作用を有していることが示唆された。腎組織では TR が主に発現していることが知られており、western blot 法による蛋白発現レベルの解析では単離した糸球体と比較して尿細管間質で高容量の TR が発現していることが確認された。野生型(WT)マウスと TR 欠損マウスで片側尿管結紮(UUO)モデルを作成し、遺伝子発現レベルの網羅的解析を DNA マイクロアレイによって検討した。リポカリン 2、コラーゲン 12、ファイブロンネクチンは、非 UUO モデルでは WT マウスと TR 欠損マウス腎臓で有意差

は見られなかったが、UUO モデルでは 10-20 倍の発現増加が TR 欠損マウス腎臓で見られた。また、腎組織標本を Masson trichrome 染色法で腎線維化を比較すると、非 UUO モデルの腎組織では WT マウスと TR 欠損マウスに差は見られなかったが、UUO モデルでは TR 欠損マウスにおいて尿細管間質の線維化が増加していた。本結果から、内因性 TR は腎尿細管間質において、抗炎症作用や抗線維化作用を有している可能性が示唆された

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9 件)

1. Mar 8;7:43960. 2017 Sci Rep. Furuya F, Ishii T, Tamura S, Takahashi K, Kobayashi H, Ichijo M, Takizawa S, Kaneshige M, Suzuki-Inoue K, and Kitamura K  
The ligand-bound thyroid hormone receptor in macrophages ameliorates kidney injury via inhibition of nuclear factor- $\kappa$ B activities (査読有)
2. J. 1: 1001, 2017 SM Atheroscler. Nakamura, R., Tomiyoshi, G., Shinmen, N., Kuroda, H., Kudo, T., Doi, H., Mine, S., Machida, T., Kamitsukasa, I., Wada, T., Aotsuka, A., Kobayashi, E., Yoshida, Y., Matsutan, T., Iwadate, Y., Mori, M., Uzawa, A., Muto, M., Sugimoto, K., Kuwabara, S., Takemoto, M., Hattori, A., Kobayashi, K., Awamura, H., Ishibashi, R., Yokote, K., Iwata, Y., Harada, J., Kobayashi, Y., Terada, J., Matsumura, T., Sakao, S., Tatsumi, K., Ohno, M., Chen, P. M., Nishi, E., Ono, K., Kimura, T., Kitamura, K., Takizawa, H., Kashiwado, K., Shimada, H., Ito, M., Goto, K., Zhang, X. M., Kimura, R., Wang, H., Taira, A., Arita, E., Shino, H., Iwase, K., and Hiwasa, T  
An anti-deoxyhypusine synthase antibody as a marker of atherosclerosis-related cerebral infarction, myocardial infarction, diabetes mellitus, and chronic kidney disease (査読有)
3. 6: 39305, 2016 Sci. Rep. Shuto, T., Kamei, S., Nohara, H., Fujikawa, H., Tasaki, Y., Sugahara, T., Ono, T., Matsumoto, C., Sakaguchi, Y., Maruta, K., Nakashima, R., Kawakami, T., Suico, M. A., Kondo, Y., Ishigami, A., Takeo, T., Tanaka, K.-I., Watanabe, H., Nakagata, N., Uchimura, K., Kitamura, K., Li, J. D., and Kai, H.  
Pharmacological and genetic reappraisals of protease and oxidative stress pathways in a mouse model of obstructive lung

diseases (査読有)

4. 132: 145-153, 2016 J. Pharmacol. Sci.  
Kakizoe, Y., Miyasato, Y., Onoue, T., Nakagawa, T., Hayata, M., Uchimura, K., Morinaga, J., Adachi, M., Miyoshi, T., Sakai, Y., Tomita, K., Mukoyama, M., and Kitamura, K.  
A serine protease inhibitor attenuates aldosterone-induced kidney injury via the suppression of plasmin activity (査読有)

5. 310: F1206-1215, 2016 Am. J. Physiol. (Renal Physiol.)  
Iwashita, Y., Kuwabara, T., Hayata, M., Kakizoe, Y., Izumi, Y., Iiyama, J., Kitamura, K., and Mukoyama, M.  
Mild systemic thermal therapy ameliorates renal dysfunction in a rodent model of chronic kidney disease (査読有)

6. 11: e0147328, 2016 PLoS One.  
Kuragano, T., Kitamura, K., Matsumura, O., Matsuda, A., Hara, T., Kiyomoto, H., Murata, T., Fujimoto, S., Hase, H., Joki, N., Fukatsu, A., Inoue, T., Itakura, Y., and Nakanishi, T.  
ESA Hyporesponsiveness Is Associated with Adverse Events in Maintenance Hemodialysis (MHD) Patients, But Not with Iron Storage (査読有)

7. 130: 110-116, 2016 J. Pharmacol. Sci.  
Narita, Y., Ueda, M., Uchimura, K., Kakizoe, Y., Miyasato, Y., Mizumoto, T., Morinaga, J., Hayata, M., Nakagawa, T., Adachi, M., Miyoshi, T., Sakai, Y., Kadowaki, D., Hirata, S., Mukoyama, M., and Kitamura, K.  
Combination therapy with renin-angiotensin-aldosterone system inhibitor telmisartan and serine protease inhibitor camostat mesilate provides further renoprotection in a rat chronic kidney disease model (査読有)

8. 89: 327-341, 2016 Kidney Int.  
Morinaga, J., Kadomatsu, T., Miyata, K., Endo, M., Terada, K., Tian, Z., Sugizaki, T., Tanigawa, H., Zhao, J., Zhu, S., Sato, M., Araki, K., Iyama, K., Tomita, K., Mukoyama, M., Tomita, K., Kitamura, K., and Oike, Y.  
Angiotensin-like protein 2 increases renal fibrosis by accelerating transforming growth factor- $\beta$  signaling in chronic kidney disease (査読有)

9. 21: 159-160, 2016 Nephrology  
Miyasato, Y., Miyoshi, T., Fujimoto, D., Adachi, M., Kitamura, K., and Mukoyama, M.  
Successful treatment of rapidly progressive Immunoglobulin A nephropathy with

human immunodeficiency virus infection by steroid pulse therapy and tonsillectomy (査読有)

(学会発表)(計 7 件)

1. 2016年5月 Austria 第 53 回 ERA-EDTA  
Miho Shikata, Fumihiko Furuya, Kenichiro Kitamura  
THYROID HORMONE RECEPTOR ON MACROPHAGES AMELIORATE IL1 RECEPTOR=ASSOCIATED KIDNEY FIBROSIS

2. 2016年5月 Austria 第 53 回 ERA-EDTA  
Rei Takeda-Koh, Fumihiko Furuya, Hidetoshi Kobayashi, Kenichiro Kitamura  
ASSOCIATION OF SERUM OMENTIN WITH A MARKER OF PROGRESSION OF DIABETIC NEPHROPATHY

3. 2016年5月 Austria 第 53 回 ERA-EDTA  
Tetsuharu Oku, Fumihiko Furuya, Kazutaka Haraguchi, Kenichiro Kitamura  
SKIN AUTOFLUORESCENCE IS A PREDICTOR OF PROGRESSION OF DIABETIC COMPLICATIONS

4. 2016年5月 Austria 第 53 回 ERA-EDTA  
Daiichiro Akiyama, Fumihiko Furuya, Wakasugi Masakiyo, Kenichiro Kitamura  
EFFICACY OF FEBUXOSTAT IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS WITH KIDNEY IMPAIRMENT

5. 2016年11月 CHICAGO American society of nephrology KIDNEY WEEK 2016  
Toshihisa Ishii, Fumihiko Furuya, Kenichiro Kitamura  
Ligand-Bound Thyroid Hormone Receptor on Macrophages Ameliorate Kidney Injury via Inhibition of Nuclear Factor- $\kappa$ B Activities

6. 2016年11月 CHICAGO American society of nephrology KIDNEY WEEK 2016  
Takeyuki Takamura, Fumihiko Furuya, Kenichiro Kitamura  
two cases of adult onset IgA vasculitis with acute kidney injury and severe gastrointestinal manifestations: Successful treatment with factor XIII supplement

7. 2016年11月 CHICAGO American society of nephrology KIDNEY WEEK 2016  
Hidetoshi Kobayashi, Fumihiko Furuya, Kenichiro Kitamura  
omentin1 regulates podocyte function and albuminuria

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

古屋 文彦 (FURUYA, Fumihiko)  
山梨大学医学工学総合研究部・講師  
研究者番号：90456450

##### (2)研究分担者

高橋 和也 (TAKAHASHI, Kazuya)  
山梨大学医学工学総合研究部・助教  
研究者番号：00646135

北村 健一郎 (KITAMURA, Kenichiro)  
山梨大学医学工学総合研究部・教授  
研究者番号：10304990

##### (3)連携研究者

##### (4)研究協力者