

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08924

研究課題名(和文) ノックアウトマウスを用いた腎虚血再灌流障害におけるEgr-1の果たす役割の解析

研究課題名(英文) Analysis of the role of Egr-1 in renal ischemia-reperfusion injury using Egr-1 knockout mice

研究代表者

新井 正徳 (Arai, Masatoku)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60267127

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：Egr-1 KOマウスおよびEgr-1拮抗薬を用いて、腎虚血再灌流障害モデルでのEgr-1の果たす役割について検討した。結果) Egr-1 KOマウス群およびEgr-1拮抗薬群において、腎虚血再灌流障害によって血清Crelはcontrol群よりも有意に上昇した。Egr-1拮抗薬群において、TNF, IL-6はcontrol群よりも有意に上昇し、HE染色においてrenal tubular necrosis scoreおよび好中球集積がcontrol群よりも有意に高値を示した。結語) Egr-1の発現抑制は、TNF, IL-6の産生および好中球集積を促進し腎虚血再灌流障害を増悪させる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎虚血再灌流障害はAKIの重要な発生機序である。これにはサイトカインの産生が重要であり、好中球の活性化を介し血管内皮細胞障害およびアポトーシスが惹起される。転写因子の一つであるEgr-1の発現は、サイトカイン産生に関与することが示されている。マウス腎虚血再灌流障害モデルにおいて、Egr-1の腎組織中での発現は速やかに促進することが示されているが、Egr-1がAKIの病態進展において、増悪あるいは改善のいずれに関与しているかについてはこれまで明らかでなかった。本研究によって、Egr-1 KOマウスとEgr-1拮抗薬を用い、Egr-1の発現を抑制すると、AKIの病態が進展することが見出された。

研究成果の概要(英文)：We investigated how Egr-1 knockout mice and Egr-1 antagonist affect the renal ischemia-reperfusion injury model in mice. Results) In the Egr-1 knockout mice group and the Egr-1 antagonist group, plasma creatinine levels were significantly increased by renal ischemia-reperfusion injury as compared with the control group. TNF and IL-6 were significantly higher in the Egr-1 antagonist group than in the control group, and in HE stain, the renal tubular necrosis score and renal neutrophil score were significantly higher than those in the control group. Conclusion) It was suggested that suppression of Egr-1 expression might promote TNF, IL-6 production and neutrophil accumulation, and may exacerbate renal ischemia-reperfusion injury.

研究分野：救急、集中治療

キーワード：Egr-1 TNF- IL-6 虚血再灌流障害 急性腎障害

1. 研究開始当初の背景

AKI の原疾患である出血性ショックを呈する外傷や腎移植などでは、腎虚血再灌流障害が重要な発生機序である。reactive oxygen species により活性化された単球、およびマクロファージによる TNF- α 、IL-1 などの炎症性サイトカインの産生促進により、賦活化された好中球から放出される好中球エラスターゼや活性酸素種により、腎の直細動脈における血管内皮細胞傷害が惹起され、近位尿細管壊死や尿細管上皮細胞のアポトーシスを起こすことが示されている。Early growth response factor (Egr)-1 は、単球およびマクロファージにおいて、様々な刺激により NF- κ B および AP-1 とともに発現する転写因子の一つであり、炎症性サイトカインの産性を促進することが示されている。先行研究では、肺や心筋の虚血再灌流障害モデルにおいて、Egr-1 の発現を抑制することにより臓器障害が軽減することが報告されている。しかしながら、腎虚血再灌流障害モデルにおいては、腎組織中での Egr-1 の迅速な発現促進が報告されているものの、AKI の病態進展において、増悪あるいは改善のいずれに關与しているかについてはいまだ明らかではない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、Egr-1 が腎虚血再灌流障害の病態進展にどのような役割を果たしているか明らかにすることである。

3. 研究の方法

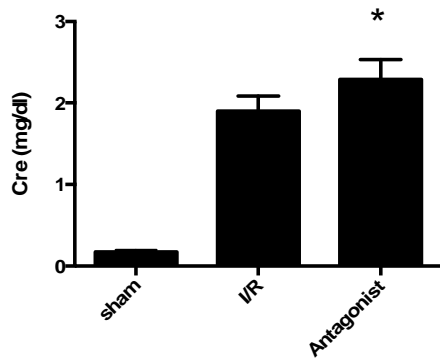
Egr-1 KO マウスおよび Egr-1 antagonist (PD98059) を用いて、Egr-1 の発現抑制が腎虚血再灌流障害モデルにどのような影響を与えるかについて検討した。マウスを以下に示す 4 群に分けた。1) sham group: wild type に腎虚血再灌流を行わない群、2) control group: wild type に腎虚血再灌流を行う群、3) antagonist group: wild type に PD98059 を腹腔内投与したのち、腎虚血再灌流を行う群、4) Egr-1 KO group: Egr-1 KO マウスに腎虚血再灌流を行う群。これらについて血清 Cre、腎組織中の TNF および IL-6 の測定と HE 染色を施行し比較検討を行った。

4. 研究成果

1) 血清 Cre 値は、Egr-1 KO group および antagonist group において、control group よりも有意に高値であった (Fig 1, 4)。2) 腎組織中の TNF、IL-6 は、antagonist group において、control group よりも有意に高値であった (Fig 2, 3)。3) HE 染色では、renal tubular necrosis score および renal neutrophil score が、antagonist group において control group よりも有意に高値を示した (Table 1)。

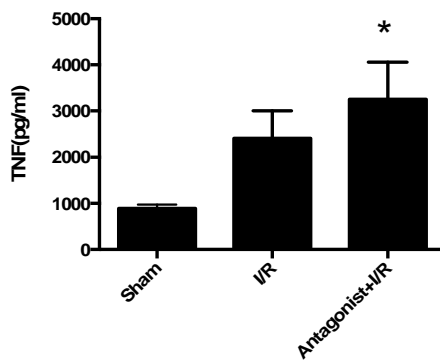
結語) Egr-1 の発現抑制は、腎虚血再灌流障害を増悪させる可能性が示唆された。

Figure 1. Serum creatinine levels after renal I/R in Wild type and antagonist treated mice.



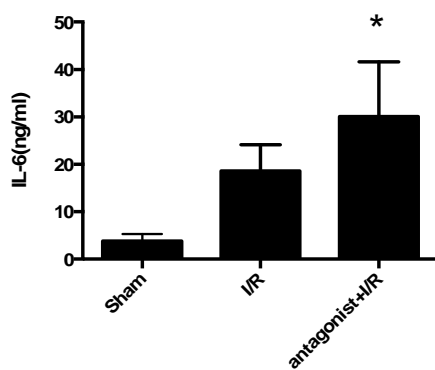
*p<0.05: Comparing serum creatinine levels in I/R to antagonist + I/R.

Figure 2. Renal TNF levels after I/R in Wild type and antagonist treated mice.



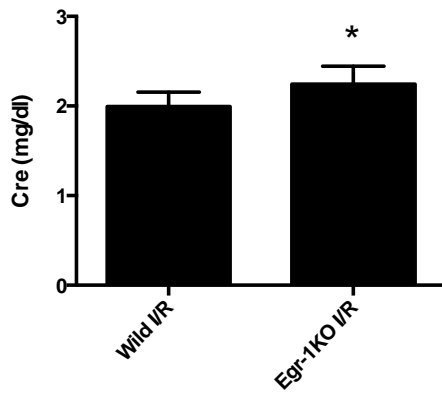
*p<0.05: Comparing renal TNF levels in I/R to antagonist + I/R.

Figure 3. Renal IL-6 levels after I/R in Wild type and antagonist treated mice.



*p<0.05: Comparing renal IL-6 levels in I/R to antagonist + I/R.

Figure 4. Serum creatinine levels after I/R in Wild type and Egr-1 KO.



*p<0.05: Comparing serum creatinine levels in Wild type + I/R to Egr-1 KO + I/R.

Table 1. Renal neutrophil score, Number of animals with tubular necrosis >10% and Renal tubular necrosis score

Group	Sham (n=2)	I/R (n=6)	antagonist + I/R (n=5)
Renal neutrophil score	2.2 ± 2.2	11.9 ± 4.4	172.3 ± 42.2 *
Number of animals with tubular necrosis >10% (%)	0%	33%	80%*
Renal tubular necrosis score	0	1.4	2.4*

*p<0.001: Comparing in I/R to antagonist + I/R.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	秋元 敏雄 (Akimoto Toshio) (30184112)	日本医科大学・医学部・准教授 (32666)	
研究分担者	山田 真吏奈 (Yamada Marina) (70508621)	日本医科大学・医学部・講師 (32666)	
研究分担者	増野 智彦 (Masuno Tomohiko) (00318528)	日本医科大学・医学部・講師 (32666)	

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