

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K16951

研究課題名（和文）PDCD4のdouble-faceな役割解明とmicroRNAバイオマーカー確立

研究課題名（英文）The role of PDCD4 and microRNA in glomeruli in the development of chronic kidney disease

研究代表者

柴田 恵理子（SHIBATA, Eriko）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・助教

研究者番号：40831516

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：細胞周期制御蛋白質PDCD4(Programmed Cell Death 4)の慢性腎炎における役割に着目した。細胞増殖が促進される状況にてrpS6 (ribosomal protein S6)リン酸化は増加し、PDCD4発現量は減少した。ヒトIgA腎症の腎組織において、PDCD4とリン酸化rpS6はメサンギウム細胞を中心に染色された。ラットThy1腎炎モデルでは、リン酸化rpS6の発現はThy1投与後7日目に強いが、PDCD4の発現は3日目がピークであり、7日目には減弱した。Thy1投与時からステロイド療法を施行するとPDCD4発現が7日目においても保たれ、rpS6発現は減少した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病は日本人の1330万人程度と考えられている。慢性腎炎はわが国における新規透析導入原因疾患の第3位であり、その割合は次第に減少しているが根絶できておらず、残余リスクに対するアプローチが課題である。PDCD4の発現は一様でなく解釈が困難であるが、細胞増殖の初期に発現し、特に細胞増殖が強い場合に発現量が増える可能性が示唆された。PDCD4は細胞増殖を負に制御すると考えられているので、PDCD4の発現量を調節することができれば、メサンギウム増殖を伴う腎疾患における新規治療法を見出すことができる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We focused on the role of the cell cycle control protein PDCD4 (Programmed Cell Death 4) in chronic nephritis. In situations where cell proliferation is promoted, rpS6 (ribosomal protein S6) phosphorylation increases and PDCD4 expression decreases. In human IgA nephropathy kidney tissue, PDCD4 and phosphorylated rpS6 were stained mainly in mesangial cells. In the rat Thy1 nephritis model, phosphorylated rpS6 expression was strong on the 7th day after Thy1 administration, whereas PDCD4 expression peaked on the 3rd day and attenuated on the 7th day. When steroid therapy was administered from the time of Thy1 administration, PDCD4 expression was maintained even on day 7, and rpS6 expression decreased.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：PDCD4 慢性腎炎

## 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病は日本における新規の common disease となり、その数は 1330 万人程度と考えられている(CKD 診療ガイド 2012(日本腎臓学会, 2012 年))。心血管疾患発症のリスクが高く、その治療法の確立は重要課題である。慢性腎炎はわが国における新規透析導入原因疾患の第 3 位であり、その割合は次第に減少しているが(わが国の慢性透析療法の現況(2022 年 12 月 31 日現在), 日本透析医学会)、いまだ根絶できておらず、残余リスクに対するアプローチが課題である。

PDCD4(Programmed Cell Death 4)は細胞周期制御蛋白質であり、発がん抑制作用が示されている他に、炎症との関連も示唆され、抗炎症作用が示唆される一方で、反対の報告もある(Lankat-Buttgereit, et al. Biol Cell. 2009; 101: 309-317, Wei et al. PLoS One. 2012; 7: e30311.)。従って PDCD4 は dual face な役割を担う可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究では細胞周期制御蛋白質であり炎症との関連も示唆されている PDCD4 に着目し、その役割の解析を行う。「条件により、良悪どちらにも傾く balancing act」をテーマとし、条件の違いによる PDCD4 発現の変化を解析する。培養メサンギウム細胞と動物実験腎炎モデルを使用し、腎臓の部位特異的に in vivo, in vitro 共に役割を把握、腎疾患を統合的に理解し、CKD の病態病期毎の新規治療戦略を提唱する。

## 3. 研究の方法

### (1) in vitro における解析

培養マウスメサンギウム細胞を用い、mTOR(mammalian target of rapamycin)シグナルの下流に存在する rpS6 (ribosomal protein S6)のリン酸化と、PDCD4 の発現とを、以下の条件で解析した。

- 細胞増殖に強く影響する因子である FBS(ウシ胎児血清)濃度を変更する
- シャーレ内の細胞密度を変更する
- 細胞増殖因子である PDGF や TGF- $\beta$  を添加する

### (2) in vivo における解析

ヒトにおける代表的な慢性腎炎である IgA 腎症と、IgA 腎症の特徴であるメサンギウム障害性腎炎を惹起するラット Thy1 腎炎モデルを用いて解析した。

IgA 腎症と診断しているヒト腎生検検体を用い、PDCD4 および rpS6 を染色し、発現部位を解析する

ラット Thy1 腎炎モデルを用い、Thy1 投与後のリン酸化 rpS6 および PDCD4 の経時的発現変化を組織染色およびウエスタンブロット法で解析する。さらに、ステロイド療法による発現の変化も解析する。

## 4. 研究成果

### (1) in vitro における解析

事前に FBS 濃度を 0.5%で starvation した培養メサンギウム細胞において、FBS 濃度を 0.5% から 10%まで割振った場合のリン酸化 rpS6 および PDCD4 の発現を解析した。FBS 濃度の上昇に伴いリン酸化 rpS6 の発現は亢進したが、PDCD4 発現量への変化は指摘できなかった。一方、starvation せずに FBS 濃度を 0.5%に置換した場合、PDCD4 発現量は増加し、リン酸化 rpS6 発現量は減少した。

培養メサンギウム細胞の細胞密度が 40%と 90%の時点でそれぞれ FBS 濃度 10%の培養液に置換し、観察した。細胞密度 40%の群では次第に PDCD4 発現が増加し、リン酸化 rpS6 発現は減少した。一方、細胞密度 90%の群では PDCD4 発現が増加するとともに、細胞密度 40%の群とは異なり、リン酸化 rpS6 の発現も増加した。

事前に FBS 濃度を 0.5%で starvation した培養メサンギウム細胞において、PDGF または TGF- $\beta$  をそれぞれ添加した。PDGF の添加によってリン酸化 rpS6 発現は増加したが、PDCD4 発現量への変化は指摘できなかった。TGF- $\beta$  の添加によってリン酸化 rpS6 発現量の変化は指摘できなかったが、PDCD4 発現量は減少した。

### (2) in vivo における解析

IgA 腎症と診断しているヒト腎生検検体を用い、PDCD4 を染色したところ、PDCD4 が染色される検体と染色されない検体があり、一樣の変化ではないことが示唆された。染色性に影響を

与える因子として、細胞増殖が強い検体で染色されやすい可能性が示唆された。染色された検体において、PDCD4 はメサンギウム細胞、管外増殖細胞、癒着部位などに染色された。リン酸化 rpS6 の解析においても同様の部位に染色された。

ラット Thy1 腎炎モデルを用い、Thy1 投与後のリン酸化 rpS6 および PDCD4 の経時的発現変化を組織染色およびウエスタンブロット法で解析した。リン酸化 rpS6 の発現は Thy1 投与後 3 日目から 7 日目にかけて強く、次第に減弱した。染色ではメサンギウム領域を中心に発現した。PDCD4 の発現は 3 日目がピークであり、リン酸化 S6 が強く染色される 7 日目においても染色されるが減弱した。リン酸化 rpS6 と同様にメサンギウム領域における発現が有意であった。Thy1 投与時からステロイド療法を施行すると、非投与群と比較して PDCD4 発現が 7 日目においても保たれ、rpS6 発現は減少した。

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〕

徳島大学腎臓内科ホームページ  
<http://www.tokudai-kidney.jp/>

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
---------	---------