

機関番号：24701

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20790740

研究課題名（和文）小児ネフローゼ症候群における小胞体ストレスの分子生物学的検討

研究課題名（英文）Molecular analyses of ER stress in childhood nephrotic syndrome

研究代表者 島 友子（SHIMA YUKO）

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：60433364

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、小児ネフローゼ症候群における小胞体ストレスの有無を明らかにし、その病態に関与していることを証明することである。本研究では小児ネフローゼ症候群において小胞体ストレスの存在を確認した。さらに、シクロスポリン使用後で小胞体ストレス関連因子の有意な増加を認めシクロスポリンが小胞体ストレスを引き起こすことが分かった。またアポトーシス関連因子がシクロスポリン治療後に有意な増加を認め、シクロスポリンは小胞体ストレスを介してアポトーシスを誘導していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：To clarify the presence of ER stress and a role of it in children with nephrotic syndrome, we obtained renal biopsy specimens in children with nephrotic syndrome. We performed real-time PCR to investigate the presence of ER stress and apoptosis. We analyzed EIF2 α , GRP78, GRP94, CHOP and BAD. The amount of each gene amplification was examined before and after the administration of cyclosporine. The patients with cyclosporine showed significant increase of amplification of GRP78, GRP94, BAD, and EIF2 α , suggesting that the use of cyclosporine is a factor provoking ER stress. The amplification of BAD increased significantly after the administration of cyclosporine, suggesting that the use of cyclosporine may induce apoptosis through ER stress.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：小児腎臓病学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：ネフローゼ症候群 小胞体ストレス シクロスポリン

1. 研究開始当初の背景

特発性ネフローゼ症候群では、細胞膜に存在するべきネフリンの細胞質内異常蓄積現象が確認されており、小胞体ストレスによるネフリンの輸送障害、病的細胞質内蓄積がネフローゼ症候群の病態に関与していると推測されている。

2. 研究の目的

小児ネフローゼ症候群における、小胞体ストレスの有無を明らかにし、ネフローゼ症候群における病態に関与していることを証明する。

3. 研究の方法

小児ネフローゼ症候群の患者で得られた腎生検検体を光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、電子顕微鏡にて観察した。蛍光顕微鏡用に組織をマイクロトームで3 μ m厚にスライスし、RNeasy mini kit (Qiagen) を用いてRNAを採取し、Takara Thermal Cycler Dice を用いて、real-time PCR を行った。小胞体ストレスとアポトーシスに関連する遺伝子として、EIF2 α 、GRP78、GRP94、CHOP、BAD、GAPDH の6種類を検索した。各遺伝子はGAPDH で補正した。

シクロスポリン使用の影響を確認するために、使用前後の小胞体ストレスの比較をした。シクロスポリン前を1とし、シクロスポリン投与後に各遺伝子が何倍に増加したかを検討した。

4. 研究成果

本研究では小児ネフローゼ症候群患者において小胞体ストレスの存在を確認した。

さらに、頻回再発型ネフローゼ症候群を呈しシクロスポリンを使用した群では、シクロスポリン使用後で腎生検組織において明らかな腎毒性を認めない患者においても、小胞体ストレスに関与する遺伝子である GRP78、GRP94、BAD、EIF2 α の有意な増加を認めシクロスポリン治療が ER ストレスを引き起こす誘因として重要な因子であることが分かった。

またアポトーシスに関連する CHOP、BAD の検索ではシクロスポリン治療後の BAD の有意な増加を認め、シクロスポリンは小胞体ストレスを介してアポトーシスを誘導している可能性があることが示唆された。

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5件)

- 1) Togawa H, Nakanishi K, Mukaiyama H, Hama T, Shima Y, Sako M, Miyajima M, Nozu K, Nishii K, Nagao S, Takahashi H, Iijima K, Yoshikawa N. Epithelial-to-mesenchymal transition in cyst lining epithelial cells in an orthologous PCK rat model of autosomal-recessive polycystic kidney disease. Am J Physiol Renal Physiol.

査読有り, 2011 Feb;300(2):F511-20

- 2) Shima Y, Nakanishi K, Kamei K, Togawa H, Nozu K, Tanaka R, Sasaki S, Iijima K, Yoshikawa N. Disappearance of glomerular IgA deposits in childhood IgA nephropathy showing diffuse mesangial proliferation after 2 years of combination/prednisolone therapy. *Nephrol Dial Transplant*. 査読有り, 2011 Jan;26(1):163-9.
- 3) Shima Y, Nakanishi K, Togawa H, Obana M, Sako M, Miyawaki M, Nozu K, Iijima K, Yoshikawa N. Membranous nephropathy associated with thyroid-peroxidase antigen. *Pediatr Nephrol*. 査読有り, 2009 Mar;24(3):605-8.
- 4) Togawa H, Nakanishi K, Shima Y, Obana M, Sako M, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. Increased chymase-positive mast cells in children with crescentic glomerulonephritis. *Pediatr Nephrol*. 査読有り, 2009 May;24(5):1071-5.
- 5) Yata N, Nakanishi K, Shima Y, Togawa H, Obana M, Sako M, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. Improved renal survival in Japanese children with IgA nephropathy. *Pediatr Nephrol*. 査読有り, 2008 Jun;23(6):905-12.

[学会発表] (計 13 件)

- 1) Shima Y, Nakanishi K, Togawa K, Mukaiyama H, Hama T, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N: Prognostic factors in childhood IgA nephropathy with focal mesangial proliferation treated with angiotensin

converting enzyme inhibitors. 43rd Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Denver, USA, 2010.11.16-21

- 2) Shima Y, Nakanishi K, Togawa H, Nozu K, Tanaka R, Iijima R, Yoshikawa K: Natural remission rate and prognostic factors in childhood IgA nephropathy with minimal change or focal mesangial proliferation. 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, New York, USA, 2010.8.21-9.3
- 3) 島友子, 中西浩一, 戸川寛子, 野津寛大, 飯島一誠, 田中亮二郎, 吉川徳茂: 微小変化・巣状メサンギウム増殖を示す小児 IgA 腎症における自然寛解率とその予測因子 第 45 回小児腎臓病学会学術集会、2010.7.2-3 大阪
- 4) 島友子, 野津寛大, 戸川寛子, 貝藤裕史, 飯島一誠, 松尾雅文, 中西浩一, 吉川徳茂: 運動後急性腎不全と PRES の合併を反復し、GLUT9 遺伝子複合ヘテロ接合体変異を同定しえた腎性低尿酸血症の一例 第 45 回小児腎臓病学会学術集会、2010.7.2-3 大阪
- 5) Shima Y, Nakanishi K, Kamei K, Togawa H, Nozu K, Tanaka R, Sasaki S, Iijima K, Yoshikawa N: Factors for proteinuria disappearance after 2-yr combination/prednisolone therapy in severe childhood IgA nephropathy. International Society of Nephrology NEXUS Symposium, Kyoto, Japan, 2010.4.15-18
- 6) Togawa H, Nakanishi K, Shima Y, Sako M, Miyajima M, Nozu K, Iijima K, Yoshihara D, Nagao S, Yoshikawa N:

- Snail Is Involved in Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) in Cyst-Lining Epithelial. 42nd Annual Meeting of the American Society of Nephrology, San Diego, USA, 2009.10.29-11.1
- 7) 島友子、中西浩一、戸川寛子、野津寛大、飯島一誠、吉川徳茂：運動後急性腎不全と PRES(Posterior reversible encephalopathy syndrome)の合併を反復した腎性低尿酸血症の1例 第31回小児腎不全学会、2009.10.8-9 新潟
- 8) 島友子、吉川徳茂、畑埜義雄：和歌山県立医大における取り組み 第39回日本腎臓病学会西部学術集会 男女共同参画特別企画 2009.10.16-17 和歌山
- 9) 島友子、中西浩一、戸川寛子、尾鼻美奈、野津寛大、飯島一誠、田中亮二郎、佐々木聡、吉川徳茂：重症小児 IgA 腎症における治療反応性規定因子 第44回小児腎臓病学会学術集会、2009.6.26-27 東京
- 10) 島友子、中西浩一、戸川寛子、尾鼻美奈、野津寛大、田中亮二郎、佐々木聡、飯島一誠、吉川徳茂：重症小児 IgA 腎症における治療後腎 IgA 沈着消失の臨床病理学的意義 第52回日本腎臓病学会学術集会、2009.6.3-5 横浜
- 11) Shima Y, Nakanishi K, Togawa H, Obana M, Nozu K, Tanaka R, Sasaki S, Iijima K, Yoshikawa N. Disappearance of glomerular IgA deposits in severe childhood IgA nephropathy after 2-yr combination/prednisolone therapy. J Am Soc Nephrol, 2008 41st Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov.4-9, in Philadelphia, USA
- 12) 島友子、中西浩一、渋谷昌一、戸川寛子、尾鼻美奈、野津寛大、貝藤裕史、飯島一誠、吉川徳茂：運動後急性腎不全(ALPE)を呈し PRES(Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome)を合併した腎性低尿酸血症の一例 第30回日本小児腎不全学会学術集会、2008.10.2-3 栃木
- 13) 島友子、中西浩一、戸川寛子、尾鼻美奈、野津寛大、田中亮二郎、佐々木聡、飯島一誠、吉川徳茂：IgA 沈着が消失した重症型小児 IgA 腎症26例の検討 第43回日本小児腎臓病学会学術集会、2008.6.13-14 福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

島 友子 (SHIMA YUKO)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：60433364