

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 28 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2012

課題番号：21790826

研究課題名（和文） 進行性腎障害における SOCS の役割の解明

研究課題名（英文） The role of Janus tyrosine kinase(JAK) signal transducer and activator of transcription(STAT) and suppressor of cytokine signaling (SOCS) pathway in the renal interstitial fibrosis after unilateral ureteral obstruction

研究代表者

小池 清美 (KOIKE KIYOMI)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：80389270

研究成果の概要（和文）：Janus kinase (JAK) tyrosine kinase and signal transducer and activator of transcription (STAT) シグナルは腎線維化の修復過程に関与する

JAK/STAT は免疫細胞や血球系細胞で重要な役割を果たし SOCS により負に制御される。腎疾患における JAK/STAT/SOCS の役割は不明な点が多く、腎間質線維化動物モデル (UUO) とヒト尿細管細胞で検討した。UUO では経時的なリン酸化 STAT 誘導と SOCS 遺伝子発現、腎線維化が観察され、SOCS 弱発現群、JAK 抑制群において、線維化とリン酸化 STAT、MMP コラーゲン分解活性抑性が観察された。

研究成果の概要（英文）：Protective role of JAK/STAT signaling against renal fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction

JAK/STAT system is an essential intracellular signaling pathway of various cytokines and stimuli that could regulate a variety of inflammatory reactions, proliferation, and differentiation. SOCS work as a negative feedback pathway of this system. JAK/STAT/SOCS system may play an important role in renal responses. To clarify how JAK/STAT/SOCS system was involved in renal fibrosis, unilateral ureteral obstruction (UUO) was induced in BALB/c or SOCS3 heterozygous knockout (SOCS3^{+/-}) mice in the presence or absence of JAK inhibitor-incorporated nanoparticle (pyridine6-PGLA). Our present study suggests that JAK/STAT3 signaling may play an important role in repair process of renal fibrosis in UUO partly via activation of MMP-2.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2009年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 2010年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 2011年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 2012年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,100,000 | 930,000 | 4,030,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：腎線維化、JAK/STAT/SOCS、片側尿管結紮モデル

1. 研究開始当初の背景

腎間質の線維化は進行性腎障害の特徴的な一面である(Int Med 2004; 43: 9)。ヒトや実験モデル動物において、種々の腎炎、腎症における腎間質の線維化は、腎障害進行に関与し、腎機能や腎予後とよく相関することが知られている。腎線維化の過程において、マクロファージの浸潤とそれに由来するサイトカイン、ケモカインの関与が示唆されているが、炎症と腎線維化の詳細な関連はいまだ不明な点が多い(Kidney Int 2005; 68: 437)。サイトカインは細胞内シグナルであるJAK/STAT (janus kinase / signal transducer and activator of transcription) 経路を活性化することにより、標的遺伝子の発現を誘導し、生体のホメオスタシスの維持や免疫、炎症にきわめて重要な役割を果たしている(Cell 2002; 109: s121)。加えて、サイトカインによって発現が誘導され、JAK/STAT 経路を負に制御する SOCS (suppressor of cytokine signaling) family

が同定されている。その中で、SOCS3 は直接 JAK キナーゼ活性を抑制し、JAK/STAT 経路の負の制御因子として機能することが示されている(Science 2001; 296: 1653)。腎疾患においては、ループス腎炎、マウスネフローゼ、ATII シグナル伝達などで JAK/STAT に関する報告があるが、腎線維化における役割は不明である。

2. 研究の目的

腎間質線維化動物モデル(片側尿管結紮モデルマウス)を作成し、サイトカイン(janus kinase/signal transducer and activator of transcription: JAK/STAT, suppressor of cytokine signaling: SOCS)による機序を検討する。

3. 研究の方法

片側尿管結紮腎を作成し、経時的にサイトカイン蛋白(STAT とリン酸化 STAT の増加)と SOCS 遺伝子の発現誘導し、組織学的変化

やコラーゲンの遺伝子発現、浸潤細胞(マクロファージ)を観察した。次に SOCS 弱発現群(SOCS ノックアウトマウス)と、JAK 抑制群(JAK inhibitor 投与マウス)で、これらのサイトカイン誘導と腎組織の変化を観察した。加えてヒト尿細管細胞をサイトカインで刺激し STAT とリン酸化 STAT の増加を観察した。

4. 研究成果

片側尿管結紮腎では、経時的にリン酸化 STAT が誘導され、SOCS 遺伝子の発現を認めた。同時に経時的に腎線維化が観察され、SOCS 弱発現群では線維化は減弱し、JAK 抑制群では増強していた。線維化とリン酸化 STAT はパラレルに変化していた。STAT3 の活性化(リン酸化 STAT3)は免疫二重染色で腎尿細管とマクロファージに発現していた。線維化に関してコラーゲン遺伝子の発現は増強していなかったため、コラーゲン分解について Matrix Metalloproteinase(MMP)を検討したところ、MMP 活性は片側尿管結紮腎よりも SOCS 弱発現群で活性が強まり、JAK 抑制群では抑制されていた。

次に、細胞レベルの変化を観察するために、ヒト尿細管細胞を用い、JAK のリガンドを刺激すると、JAK/STAT 系が動き、MMP の活性化が観察され、JAK を抑制すると MMP 活性の抑制が観察された。

これらの結果から、腎線維化は MMP を介して負に調節されている可能性が示唆された。

現在は、JAK/STAT 系の刺激となるサイト

カインに関して、サイトカインの直接作用によるものか、間接作用によるものなのか、種々のサイトカインを用い経時的に観察している。また、JAK/STAT 系により調節される線維化について、コラーゲンの種類を含め検討している。

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. Experimental diabetic nephropathy is accelerated in matrix metalloproteinase-2 knockout mice.

Takamiya Y, Fukami K, Yamagishi S, Kaida Y, Nakayama Y, Obara N, Iwatani R, Ando R, Koike K, Matsui T, Nishino Y, Ueda S, Cooper ME, Okuda S. Nephrol Dial Transplant. 2013,Jan;28(1):55-62.(査読有)

2. A new vasculitis activity score for predicting death in myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis patients.

Koike K, Fukami K, Yonemoto K, Iwatani R, Obata R, Ueda K, Toyonaga M, Ueda S, Ohara A, Takeda K, Yamagishi S, Okuda S. Am J Nephrol. 2012;35(1):1-6. (査読有)

3. Case report; a case of acute kidney

injury due to intravenous zoledronic acid hydrate, improved with bortezomib plus dexamethazone therapy in a patient with multiple myeloma

Koike K, Morishige S, Fukami K, Taguchi K, Yakushiji K, Okamura T, Okuda S. Nihon Naika Gakkai Zasshi. 2011 Jan 10;100(1):179-81. Japanese. (査読有)

4. Interstitial Foxp3-positive T cells may predict renal survival in patients with myeloperoxidase anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis.

Yoshimura J, Fukami K, **Koike K**, Nagano M, Matsumoto T, Iwatani R, Kusumoto T, Hazama T, Ueda S, Adachi H, Hirai Y, Takasu K, Ohshima K, Yamagishi S, Okuda S. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2010 Sep;37(9):879-83. (査読有)

5. Protective role of JAK/STAT signaling against renal fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction

Kiyomi Koike, Seiji Ueda, Sho-ichi Yamagishi, Hideo Yasukawa, Yusuke Kaida, Kei Fukami, Akihiko Yoshimura, Seiya Okuda
Clinical Immunology に投稿し、現在、追加実験中である。(査読有)

[学会発表] (計 3 件)

①**小池清美** 上田誠二 甲斐田裕介 深水 圭 安川秀雄 山岸昌一 奥田誠也*

「Janus kinase (JAK) tyrosine kinase and signal transducer and activator of transcription (STAT) シグナルは MMP - 2 の活性化を介し腎線維化の修復過程に関与する」第 15 回分子腎臓研究会 2009.9.5
メルパルク京都

②**Kiyomi Koike**, Seiji Ueda, Hideo Yasukawa, Sho-ichi Yamagishi, Yusuke Kaida, Kei Fukami, Akihiko Yoshimura, and Seiya Okuda
Protective role of JAK/STAT pathway against renal fibrosis in animal models
International society of nephrology
Milan, Italy, 2009 (May 22-26)

③**小池清美** 上田誠二 安川秀雄 深水 圭 奥田誠也
「腎線維化における JAK/STAT/SOCS の役割」第 14 回阿蘇腎フォーラム 2009.5.9
ソラリア西鉄ホテル

[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

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小池清美 (KOIKE KIYOMI)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：80389270

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：