

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 16 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590897

研究課題名（和文）

組織特異的 NFκB 抑制による腎老化予防効果の検討

研究課題名（英文）

Effects of renal tissue-specific NFκB blockade on aging kidneys

研究代表者

岡田 浩一（OKADA HIROKAZU）

埼玉医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60233342

研究成果の概要（和文）：腎尿細管上皮細胞特異的に NFκB 経路を阻害する遺伝子改変動物（gGT.Cre;IκBdN マウス）を作成した。20 ヶ月齢の腎組織を評価したところ、野生型マウスにおいて 3 ヶ月齢に比較して尿細管周囲間質に線維化が出現しており、加齢による組織変化と考えられた。gGT.Cre;IκBdN マウスではこの腎間質線維化が有意に増悪していた。腎尿細管上皮細胞における長期にわたる NFκB 経路の阻害は、間質線維化を増悪させる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We generated genetically-modified mice, gGT.Cre:IκBdN mice, in which the NFκB pathway is blocked exclusively in tubular epithelium. In the kidney of wild-type mice at 20 month-old, peritubular fibrosis was observed compared to those at 3 moth-old, which seemed to be an age-related, histological change. In contrast, peritubular fibrosis was significantly enhanced in the kidney of gGT.Cre:IκBdN mice at 20 month-old. Therefore, long-term blockade of NFκB pathway in tubular epithelium was supposed to accelerate renal fibrogenesis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	600,000	180,000	780,000
2011 年度	600,000	180,000	780,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

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：老化、NFκB 経路、線維化、遺伝子改変動物、尿細管上皮細胞

1. 研究開始当初の背景

高齡化社会を迎えつつあるわが国では、透

析導入となる末期腎不全の原因疾患にも大きな変化が現れており、いわゆる慢性糸球体腎炎が減少する一方、加齢性変化を基礎とする高齢者の腎機能障害が増えている。組織学的な腎臓の加齢性変化の特徴は、細小動脈硬化～糸球体球状硬化、尿細管萎縮と間質マトリックス沈着であり、他の慢性進行性腎疾患が進展した結果の腎線維化と多くの共通点を有しており、腎老化の研究にはこれまで我々が蓄積してきた腎線維化研究の知見や経験を活かせる可能性がある。

また老化の分子メカニズムが徐々に明らかにされ、代表的な抗老化因子である SIRTファミリーの作用機序のひとつとして、NFkB 経路の抑制が想定されている。Senescence は老化した細胞が示す代表的な特徴のひとつで、老化した腎組織では、皮質尿細管上皮細胞を中心に糸球体上皮細胞や細小動脈平滑筋細胞に観察され、上述の組織学的加齢性変化の部位に一致することから、その成因への関与が推定される。この両者を結び付ける知見として、多数の senescence に関わる遺伝子のゲノム上流に NFkB 結合配列が確認され、また NFkB 活性化により培養細胞に senescence が誘導されることから、NFkB 経路は senescence 抑制、ひいては老化予防の治療標的となる可能性がある。

さらに我々の研究室では尿細管上皮細胞特異的に NFkB 経路が抑制される遺伝子改変マウス(gGT.Cre; IkbDn マウス)を作成し、急性腎障害モデルを用いた検討で NFkB 抑制により腎線維化の進展が抑えられることを確認している。

2 . 研究の目的

老化腎では NFkB 経路が活性化されており、NFkB 経路を抑制することで、腎臓の加齢性変化(糸球体硬化、尿細管萎縮、間質線維化～

腎機能低下)を抑制できるかを明らかとするため、遺伝子改変動物を用いて senescence が観察される腎尿細管上皮細胞特異的に NFkB 経路を持続的に抑制して、NFkB 経路の腎老化における関与を検討する。

3 . 研究の方法

尿細管上皮細胞特異的に NFkB が抑制される遺伝子改変マウス(gGT.Cre; IkbDn マウス)とコントロール野生型マウスのオス 25 匹/群をそろえ、20 ヶ月の経過観察を開始する。若年コントロール群として 3 ヶ月齢の、また高齢群として 20 ヶ月齢の時点で両マウスから 5 匹ずつサンプルを採取する。検尿および血液生化学による腎機能評価、腎臓の病理所見の評価、老化関連遺伝子発現変化に関して各群間で比較し、組織特異的な NFkB 経路の長期抑制による腎老化予防効果を検討する。

4 . 研究成果

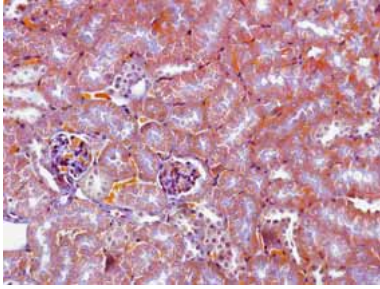
(1) 20 ヶ月齢までの体重変化や生存率に、野生型マウスおよび gGT.Cre; IkbDn マウスに有意差はなかった。

(2) 20 ヶ月齢時の尿蛋白および血清クレアチニンは、野生型マウスで 8.7 ± 3.5 [mg/mg cr] および 0.10 ± 0.05 [mg/dL]、gGT.Cre; IkbDn マウスで 11.2 ± 5.5 [mg/mg cr] および 0.13 ± 0.05 [mg/dL] であり、後者で増加する傾向が認められたが、有意差はなかった。

(3) 20 ヶ月齢時の肺、肝臓、消化管や皮膚には明らかな腫瘍性変化は認めなかった。

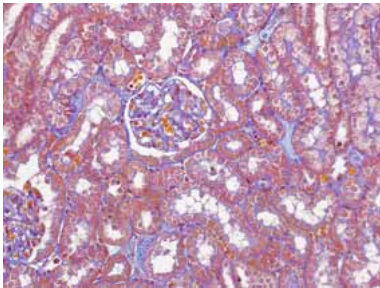
(4) 腎組織のマッソントリクローム染色標本では、以下に示すように、3 ヶ月齢の若年コ

ントロール群および 20 ヶ月齢の野生型マウス高年齢群に比較して、20 ヶ月齢の gGT.Cre; IkbDn マウス高年齢群において、有意な尿細管周囲の間質を中心とした細胞外マトリックスの沈着（青色）（＝線維化領域）の増加が認められた。



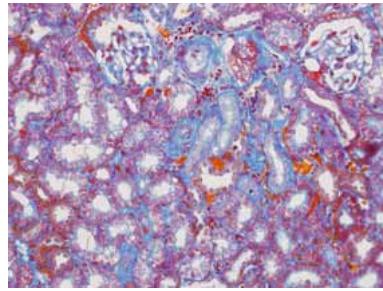
野生型マウス（3 ヶ月齢）

糸球体硬化、尿細管萎縮や間質線維化所見を認めない。gGT.Cre; IkbDn マウス（3 ヶ月齢）も同様の所見であった。



野生型マウス（20 ヶ月齢）

明らかな糸球体硬化は認めないが、3 ヶ月齢に比較して、基底膜の肥厚性変化が著明になっていた。尿細管萎縮は目立たないが、一部の尿細管に肥大傾向が認められた。糸球体・血管周囲および尿細管周囲間質に細胞外基質の沈着が認められた。炎症性細胞の有意な浸潤は認められなかった。



gGT.Cre; IkbDn マウス（20 ヶ月齢）

糸球体基底膜の肥厚性変化は野生型マウス（20 ヶ月齢）とほぼ同等であった。尿細管に関しては、一部に萎縮と肥大を認めた。糸球体・血管周囲および尿細管周囲間質に細胞外マトリックスの沈着を認め、野生型マウス（20 ヶ月齢）と比較して有意に増加していた。

この腎線維化の進行が加齢性変化の亢進なのか、または NFκB 経路の慢性的抑制による別の病的所見なのかを明らかにするため、老化に特異的な組織学的変化（senescence 細胞数, p16, p21, p53 および HMGA1 陽性細胞数）および遺伝子発現（Cfb, Elk3, Iap2, Sirt1, Sirt3, Sirt6, Nampt などの老化関連遺伝子）をさらに検討する予定である。なお近年、急性肝障害後の肝線維化に対し、senescence が進展抑制性に働く可能性が指摘されており¹⁾、今回の実験系においても尿細管上皮細胞特異的な NFκB 経路の抑制が、senescence 細胞の減少を介して腎線維化を促進した可能性があり、この仮説からの検討も加える予定である。

1) Lujambio A, et al. Non-Cell-Autonomous Tumor Suppression by p53. Cell 153, 449-460, 2013

5. 主な発表論文等
なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

岡田 浩一 (OKADA HIROKAZU)

埼玉医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60233342

(2)研究分担者

井上 勉 (INOUE TSUTOMU)

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：30406475