

令和元年6月18日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10073

研究課題名(和文)小児特発性ステロイド感受性ネフローゼ症候群の病態解明への挑戦-STAT5B戦略-

研究課題名(英文)Mechanistic studies to analyze the pathophysiology of ISSNS in children

研究代表者

金井 孝裕 (Kanai, Takahiro)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00398504

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：小児特発性ステロイド感受性ネフローゼ症候群に対する転写因子STAT5Bの関与・役割を解明し、本症の病態解明に寄与する知見を得て、その発症予防・治療薬の開発を促進させることを目的とする。

材料：小児ISSNS罹患児の、PhaseA1...ステロイド治療開始前ネフローゼ期、PhaseA2...ステロイド治療終了後寛解期の、末梢血単核球ペア検体を用いた。方法：抗ヒトSTAT5B抗体を用いてChIP-seq法を行った。結果は、PhaseA1に、統計学的優位さをもって増加または減少する、結合部位を検出した。これらのうち、血管透過性、細胞・液性免疫、脂質代謝に関与する遺伝子結合部位を複数検出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、小児特発性ステロイド感受性ネフローゼ症候群の病態の一部を解明する手掛かりを得ることができた。本研究を進めることで、原因のさらなる解明を行うことができると思われる。

研究成果の概要(英文)：This study was aimed to investigate the role of STAT5B in pediatric idiopathic steroid-sensitive nephrotic syndrome and to reveal the pathophysiology, then to contribute to develop new medicines for this disease. ChIP-seq technique was applied for this study, using the patients' paired-peripheral blood mononuclear cells from nephrotic-phase before initiation of steroids and from remission phase without any medication. Several peaks of binding-sites were detected. The peaks were statistically different between nephrotic-phase and remission-phase. Some of them were the binding sites for vascular permeability, cellular or humoral immunity or lipid metabolism.

研究分野：小児腎臓病

キーワード：小児特発性ステロイド感受性ネフローゼ症候群

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

小児特発性ステロイド感受性ネフローゼ症候群（小児 ISSNS）は、日本において、年間約 1300 人の新規患者がある慢性腎疾患である。本症は、好発年齢を 4～5 歳とし、成人にも発症するものの、本症罹患者全体の約 70%は小児期に発症する。

小児 ISSNS の病因は不明で、特異的治療法や根本的治療法はない。ステロイド治療により生命予後は良好となつてはいるが、根治療法ではないため頻回に再発し、長期間のステロイド内服が必要となる。ステロイドの長期内服は、骨粗鬆症や緑内障・白内障、精神疾患、耐糖能異常など、さまざまな続発症を生み出す。これら続発症や続発症予防のために、小児の健やかな成長・発達が妨げられている。

このため、小児ISSNSの病態解明に寄与する知見を得て、その発症予防・治療薬の開発を促進させることが、期待されている。

### 2. 研究の目的

小児ISSNSに対する転写因子STAT5Bの関与・役割を解明し、これにより、本症の病態解明に寄与する知見を得て、その発症予防・治療薬の開発を促進させることを目的とする。

我々は、小児 ISSNS の病態に、ヘルパーT細胞、B細胞や、マクロファージが関与すること、そして、インターロイキン7（IL-7）の血中濃度が、本症のネフローゼ期に上昇することを、報告した。また、小児 ISSNS の病勢に、高脂血症、高 IgE 血症、Treg 数減少が関与していることがすでに知られている。STAT5B は、脂質産生、IgE 産生、Treg 数を制御する転写因子であることが知られ、IL-7 は、転写因子 STAT5B の正の刺激因子であることが知られている。

これらの事実をもとに、今回、小児 ISSNS の病態解明に寄与する知見を得るため、末梢血細胞における STAT5B 制御遺伝子を網羅的に解析し、小児 ISSNS における病勢関連候補遺伝子の検出を試みる。これにより、本症の発症予防・治療薬の開発を促進させることを目的とする。

### 3. 研究の方法

本研究は、自治医科大学生命倫理委員会の承認を得て、行った。

#### 実験1 STAT5B の、小児 ISSNS の病態への関与の証明

##### 材料

小児 ISSNS 罹患者の、下記の末梢血単核球ペア検体を用いた。

PhaseA1…ステロイド治療開始前ネフローゼ期

PhaseA2…ステロイド治療終了後寛解期

##### 方法

リアルタイム PCR 法にて、STAT5B の発現の差を比較した。

#### 実験2 小児 ISSNS の病勢関連 STAT5B 制御遺伝子の検索

##### 材料

小児 ISSNS 罹患者の、下記の末梢血単核球ペア検体を用いた。

PhaseA1…ステロイド治療開始前ネフローゼ期

## PhaseA2…ステロイド治療終了後寛解期

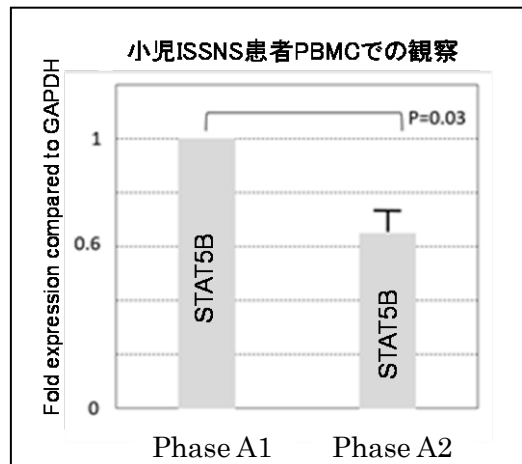
### 方法

抗ヒト STAT5B モノクローナル抗体を用いて ChIP-seq 法を行った。リファレンスゲノムには、hg19 (UC, Santa Cruz Genome Browser) を、マッピングには bwa を、ピークコールには、MACS を使用した。PhaseA1 と PhaseA2 の間で、ピークコールレベルに差のある結合部位を検出した。

## 4. 研究成果

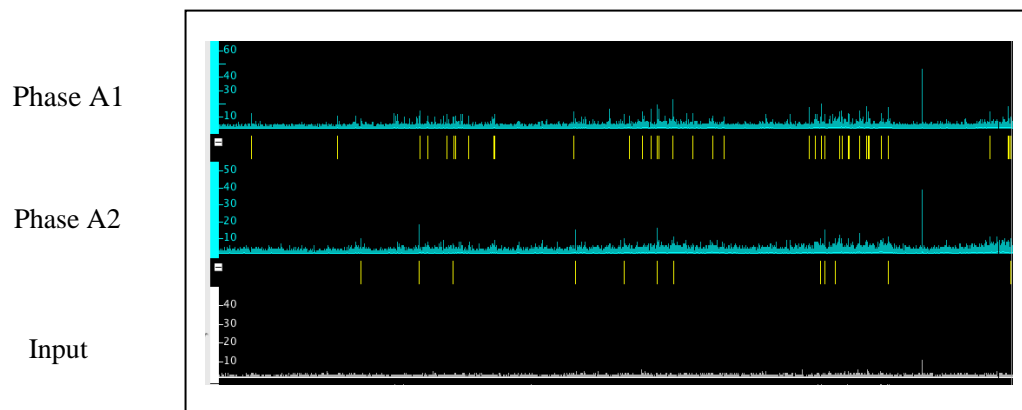
### 結果 1

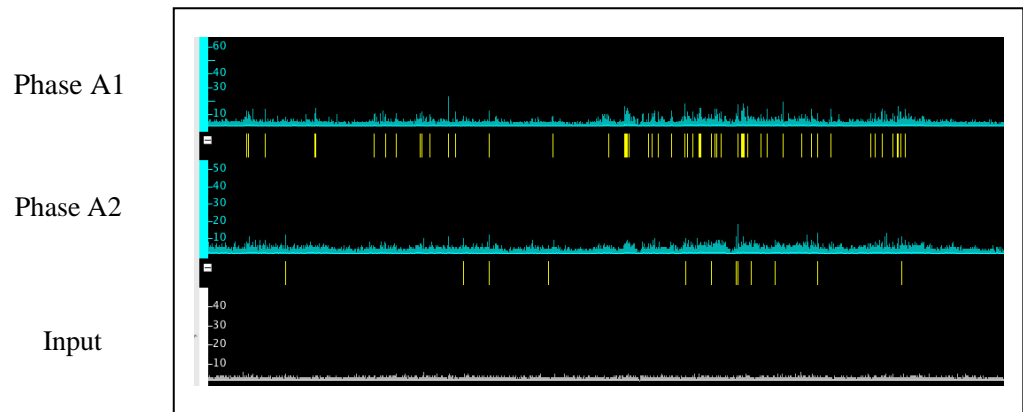
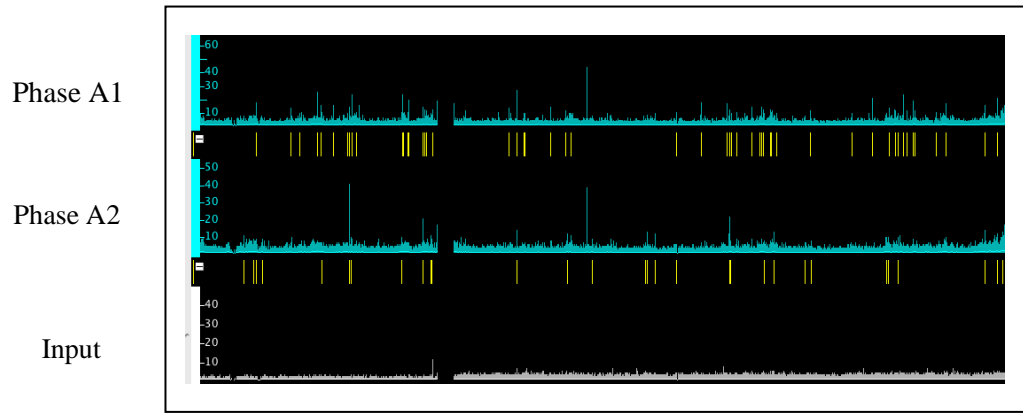
小児 ISSNS 患者末梢血において、STAT5B の発現量は、Phase A1 において、Phase A2 に比べて、有意に増加していた。



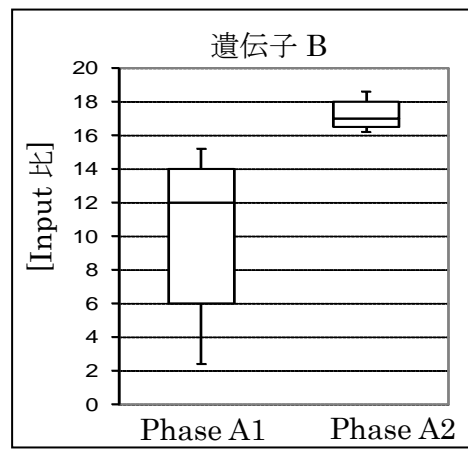
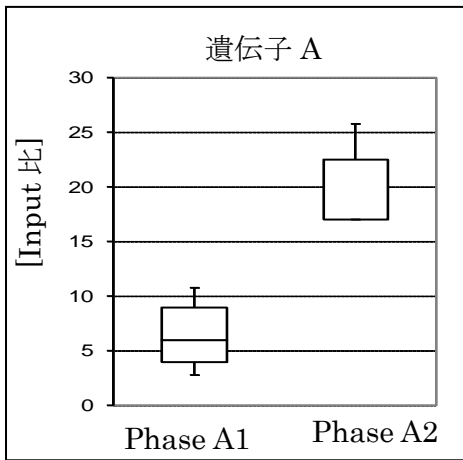
### 結果 2

各ペア検体に共通して、PhaseA1 に、増加または減少する結合部位を検出した。これらのうち、血管透過性、細胞・液性免疫、また、脂質代謝に関与する遺伝子の結合部位を複数検出した。結果の一部を示す。





STAT5B 結合量変化



5. 主な発表論文等

現在の研究をさらに進めて、発表予定である。

〔雑誌論文〕（計 件）

〔学会発表〕（計 1 件）

発表者名 金井孝裕

発表表題 小児特発性ステロイド感受性ネフローゼ症候群の病態解明への挑戦  
-転写因子 STAT5B からの戦略的アプローチ-

学会名 第121回日本小児科学会学術集会

発表年 2018年4月

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。