

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：12102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06230・19K21330

研究課題名(和文)系球体上皮細胞特異的転写因子MafBによる慢性腎臓病への治療応用

研究課題名(英文) Application for treatments of chronic kidney disease used by podocyte specific transcription factor MafB

研究代表者

臼井 俊明 (Usui, Toshiaki)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：50825099

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：巣状分節性糸球体硬化症(FSGS)のモデルマウス解析で、MafBが腎糸球体上皮細胞に過剰発現したマウスでは、尿タンパクが減少して腎障害も軽減した。ビタミンA誘導体の一種であるオールトランスレチノイン酸(atRA)が、マクロファージにMafBを誘導することを過去に報告しており、マウスの腎糸球体上皮細胞株にatRAを投与したところ、MafB発現量の上昇を確認した。マウスの実験でも、atRA投与マウスでは、腎臓の単離糸球体でMafB発現量が上昇し、これらのマウスでは尿タンパクが減少し、腎障害も軽減していた。腎糸球体上皮細胞でMafBを発現上昇させることでFSGSが軽減すること、が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

巣状分節性糸球体硬化症は、指定難病の対象となっている疾患で、治療にはステロイド剤や免疫抑制薬が用いられるが、難治性で、患者の約4割が、発症後15年程度で末期腎不全に至る。主として糸球体上皮細胞の傷害が、巣状分節性糸球体硬化症の発症・進展の鍵を握ると考えられているが、これまで発症メカニズムは十分に解明されていなかった。

今回の研究において、遺伝子操作や既存の白血病治療薬(オールトランスレチノイン酸)投与により、糸球体上皮細胞にMafBを過剰発現させたマウスでは、腎障害悪化やタンパク尿が軽減することを解明した。この結果は、巣状分節性糸球体硬化症の新しい治療法開発の基盤となる。

研究成果の概要(英文)：The analysis for an accepted murine model for focal segmental glomerulosclerosis (FSGS), the level of urinary protein in MafB podocyte-specific transgenic (TG) mice was significantly less than in wild-type mice. In addition, the renal damage in TG mice was ameliorated. We already showed that All-trans retinoic acid (atRA), one of vitamin-A derivative, activates MafB expression in macrophages. We found that atRA induced MafB expression in cultured murine podocytes in a dose-dependent manner. Next, we investigated the effects of atRA on murine model for FSGS. Glomerular MafB expression was significantly increased in atRA-treated mice. The level of urinary protein in atRA-treated mice was significantly lower than in atRA-non-treated mice and the renal damage in atRA-treated mice was ameliorated. MafB genetic over expression in podocytes or the MafB inducer protects again FSGS in mice.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：糸球体上皮細胞 MafB 転写因子 慢性腎臓病 巣状分節性糸球体硬化症 誘導剤 atRA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

巣状分節性糸球体硬化症(FSGS: Focal Segmental Glomerulosclerosis)は、ネフローゼ症候群の原因疾患の一つで、日本では指定難病に認定されている。一般に FSGS の初期治療では、ステロイド治療が行われるが、その効果は限定的で、患者の約 4 割が発症後 15 年程度で末期腎不全にいたることが知られている。FSGS は、主として腎糸球体上皮細胞が傷害されることが原因と考えられているが、その詳細な発症メカニズムには不明な部分が多く残されている。

腎糸球体上皮細胞には、転写因子 MafB が発現している。これまでに、本研究グループを含め複数の研究グループから、胎児期における腎糸球体上皮細胞の正常発生に MafB が必須であることが報告されている。MafB の発現は、発生段階のみならず、成体でも腎糸球体上皮細胞で持続しているが、全身で MafB を欠損させたマウスは、生後すぐに死亡してしまうため、成体での MafB の働きはわかっていなかった。

FSGS は、25 歳以下の若年発症者では約 3 割に遺伝素因があり、腎糸球体上皮細胞の単一遺伝子の異常が発病の原因となることが知られている。近年、本研究グループは、ヒト MAFB の突然変異が FSGS の原因となることを報告した。

また、ヒト腎生検の解析で巣状糸球体硬化症において MAFB 発現が低下していたため、糸球体上皮細胞に MafB を過剰発現させることで FSGS 発症に対し、防御的に働くという仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

MafB を糸球体上皮細胞に過剰発現させることで、巣状糸球体硬化症発症に対して保護的に働くかを調べること

有効な MafB 誘導剤を選定すること

MafB 誘導剤が巣状糸球体硬化症モデルマウスに対する保護作用があることを示すことで、ヒトの巣状糸球体硬化症を始めとした慢性腎臓病への治療応用に活かすことである。

## 3. 研究の方法

MafB を糸球体上皮細胞に過剰発現させることで、巣状糸球体硬化症発症に対して保護的に働くか。

ネフリンプロモーターを用いた糸球体上皮細胞特異的 MafB 過剰発現マウス(TG マウス)を製作し、FSGS マウスモデル(アドリアマイシン腎症)を誘導する。TG マウスでタンパク尿、腎機能に保護的に働くかを検討する。

有効な MafB 誘導剤の選定

マクファージの培養細胞株で PPAR /RXR、LXR /RXR、RAR、などに対するアゴニストが MafB を誘導することが知られている。しかし、糸球体上皮細胞で MafB の誘導が可能かは不明である。そこで、糸球体上皮細胞株で上記のアゴニストが MafB を誘導可能かどうかの検討を行い、もっとも有効な誘導剤を選定する。さらに、マウス個体に投与し、腎臓の糸球体上皮細胞で MafB が誘導できるための条件検討を行う。

MafB 誘導剤による巣状糸球体硬化症モデルマウスに対する保護作用があるか。

野生型マウスにアドリアマイシン腎症を誘導する。MafB 誘導剤を投与することで腎症に保護効果があるかどうかを調べる。また、糸球体の MafB 発現低下が、MafB 誘導剤投与で防御的に働いていることも合わせて調べる。

## 4. 研究成果

TG マウスの単離糸球体では MafB の発現量が野生型(WT マウス)マウスより増加しているこ

とを確認した。FSGS マウスモデル（アドリアマイシン腎症）において、TG マウスで腎障害が軽減して尿蛋白量が減少していた。MafB を糸球体上皮細胞に過剰発現させることで、巣状糸球体硬化症発症に対して保護的に働いていることを確認した。

マウスの糸球体上皮細胞株においてビタミン A 誘導体で、RAR のアゴニストであるオールトランスレチノイン酸（atRA）で MafB を誘導可能かの検討を行ったところ、atRA の濃度依存性に糸球体上皮細胞株においても Mafb の RNA レベルでの発現量が増加することを確認した。

FSGS マウスモデル（アドリアマイシン腎症）において atRA を投与することで単離糸球体の MafB 発現低下が atRA で増加した。加えて、atRA 投与マウスでは、尿タンパクが減少し、腎障害も軽減していた。

以上から、腎糸球体上皮細胞で MafB を発現上昇させることで FSGS が軽減すること、atRA 投与で糸球体上皮細胞に MafB が誘導され、糸球体上皮細胞傷害に対して保護的に作用すること、が明らかになった。この結果は、巣状分節性糸球体硬化症の新しい治療法開発の基盤となる。

上記の研究成果を下記で報告した。

- ・ 2018 年の第 61 回日本腎臓学会学術総会で報告
- ・ 国際学術雑誌：Kidney International で論文報告：Transcription factor MafB in podocytes protects against the development of focal segmental glomerulosclerosis.  
<https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.02.038>

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Kanai Maho, Jeon Hyojung, Ojima Masami, Nishino Teppei, Usui Toshiaki, Yadav Manoj Kumar, Kulathunga Kaushalya, Morito Naoki, Takahashi Satoru, Hamada Michito | 4. 巻<br>523             |
| 2. 論文標題<br>Phenotypic analysis of mice carrying human-type MAFB p.Leu239Pro mutation   | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Biochemical and Biophysical Research Communications  | 6. 最初と最後の頁<br>452 ~ 457 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.bbrc.2019.12.033   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-               |

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>Usui Toshiaki, Morito Naoki, Shawki Hossam H., Sato Yoshinori, et al  | 4. 巻<br>-       |
| 2. 論文標題<br>Transcription factor MafB in podocytes protects against the development of focal segmental glomerulosclerosis. | 5. 発行年<br>2020年 |
| 3. 雑誌名<br>Kidney International  | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.kint.2020.02.038  | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-       |

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>臼井 俊明                           |
| 2. 発表標題<br>巣状分節性糸球体硬化症の治療ターゲットとしてのMafBの可能性 |
| 3. 学会等名<br>第61回日本腎臓学会学術集会総会                |
| 4. 発表年<br>2018年                            |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)   | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)        | 備考 |
|-------|-----------------------------|------------------------------|----|
| 研究協力者 | 森戸 直記<br><br>(Morito Naoki) | 筑波大学・医学医療系・講師<br><br>(12102) |    |

## 6. 研究組織（つづき）

|       | 氏名<br>(研究者番号)                    | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)         | 備考 |
|-------|----------------------------------|-------------------------------|----|
| 研究協力者 | 濱田 理人<br><br>(Hamada Michito)    | 筑波大学・医学医療系・助教<br><br>(12102)  |    |
| 研究協力者 | 全 孝静<br><br>(Jeon Hyojung)       | 筑波大学・医学医療系・助教<br><br>(12102)  |    |
| 研究協力者 | 久野 朗広<br><br>(Kuno Akihiro)      | 筑波大学・医学医療系・助教<br><br>(12102)  |    |
| 研究協力者 | 工藤 崇<br><br>(Kudo Takashi)       | 筑波大学・医学医療系・准教授<br><br>(12102) |    |
| 研究協力者 | 臼井 丈一<br><br>(Usui Joichi)       | 筑波大学・医学医療系・准教授<br><br>(12102) |    |
| 研究協力者 | 高橋 智<br><br>(Takahashi Satoru)   | 筑波大学・医学医療系・教授<br><br>(12102)  |    |
| 研究協力者 | 山縣 邦弘<br><br>(Yamagata Kunihiro) | 筑波大学・医学医療系・教授<br><br>(12102)  |    |