

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 15 日現在

機関番号：13501
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2008～2012
 課題番号：20390235
 研究課題名（和文）腎疾患における小胞体ストレス応答の意義の解明と新規治療戦略の開発
 研究課題名（英文）Roles of ER stress in renal pathophysiology and development of novel therapeutic approaches to kidney diseases
 研究代表者 北村 正敬（KITAMURA MASANORI）
 山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授
 研究者番号：90333062

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：小胞体ストレス、炎症、シグナル伝達、腎臓病学

1. 研究計画の概要

近年、多彩な疾患群の発症・進展過程において、小胞体ストレスがその病因として注目されてきた。しかし腎臓病学の分野では、小胞体ストレスの病理学的意義・重要性に関し、未だほとんど検討がなされていない。本研究は、各種腎病変における小胞体ストレスの関与・役割を light side, dark side の両面から明らかにするとともに、そこに関与する小胞体ストレス応答の分子機構を解明し、さらにその知見を基盤に、小胞体ストレス応答を標的とした新たな腎疾患治療戦略を創出することを目的とする。具体的には以下のタイムテーブルのもと、研究を推進する。

平成 20-21 年度

抗炎症機構としての小胞体ストレス／小胞体ストレス応答の役割の解明（Light Side）

平成 22-23 年度

組織障害惹起における小胞体ストレス／小胞体ストレス応答の役割の解明（Dark Side）

平成 24 年度

小胞体ストレス／小胞体ストレス応答の選択的制御を標的とした治療薬の開発

2. 研究の進捗状況

抗炎症機構としての小胞体ストレス／小胞体ストレス応答の役割の解明

このテーマに関しては既に当初の計画を越えた十分な検討を施行し、下記のような多くの知見を得ることができた。

(1) 小胞体ストレスと炎症性疾患との関わりに着目し、糸球体および尿細管細胞の培養系を用いて、小胞体ストレスが NF- κ B の活性化やケモカインの発現にどのような影響を与えるのかを検討した。その結果、小胞体ストレスは腎細胞において NF- κ B の活性化を軽度で誘導すること、しかしあらかじめ惹起された小胞体ストレスは後続の炎症性刺激による NF- κ B の高度な活性化を顕著に抑制しうることを明らかに

した。

- (2) その分子メカニズムとして、C/EBP β の誘導、A20 の誘導、および TRAF2 のレベル低下が関与しており、これらを介して、炎症刺激に対する糸球体細胞および尿細管細胞の応答性が獲得されることを明らかにした。
- (3) 上記の分子メカニズムに関し更に詳細な検討を行い、小胞体ストレスによる C/EBP β の誘導には特定の小胞体ストレス応答系（UPR）が関与すること、A20 の誘導には小胞体ストレスによる早期一過的な NF- κ B の活性化が寄与すること、また TRAF2 のレベル低下には ubiquitin-proteasome 系を介したタンパク分解系（ERAD）が寄与することを明らかにした。さらに炎症刺激による NF- κ B の活性化には Akt のリン酸化が介在し、そのリン酸化を小胞体ストレスが抑制すること、さらにその過程に ATF6 経路を介した mTORC1 の活性化が関与していることを明らかにした。
- (4) こうした小胞体ストレス／小胞体ストレス応答の抗炎症効果は in vivo においても認められ、LPS により誘導される各種炎症モデルに於いて、あらかじめ小胞体ストレス応答を惹起しておくことにより、LPS による in vivo での炎症応答を抑制することが可能であることを示した。
- (5) また抗炎症／免疫抑制剤として知られる cyclosporin A や FK506、さらには非ステロイド性抗炎症薬の一部には小胞体ストレス応答を惹起する薬理効果があり、こうした薬剤の抗炎症効果の一部には、小胞体ストレス応答の惹起を介した機序が含まれることを明らかにした。

組織障害惹起における小胞体ストレス／小胞体ストレス応答の役割の解明

このテーマに関する検討は、現在進行中である。われわれは腎尿細管障害を惹起することが知られている重金属や非ステロイド性抗炎症薬が、腎尿細管細胞に於いて細胞障害性の小胞体ストレス応答を誘導する事実を見

出している。現在はカドミウムによる小胞体ストレス応答と、その細胞障害性に焦点を当て、小胞体ストレス/小胞体ストレス応答系(特にIRE1経路とmTORC1)のDark Sideに関する詳細な検討を進めている。現時点までに明らかにすることができた事実は、以下の通りである。

- (1) カドミウムは小胞体ストレスを惹起するが、その過程には酸化ストレスが関与。
- (2) 小胞体ストレスを介したカドミウムの細胞毒性には、特定の小胞体ストレス応答系(IRE1-JNK経路)が関与している。
- (3) この過程には特定の活性酸素種が関与しており、特にスーパーオキシドの担う役割が大きい。

小胞体ストレス/小胞体ストレス応答の選択的制御を標的とした治療薬の開発

このテーマに関する検討は平成24年度分として当初計画したが、すでに前倒しする形で着手している。最近われわれは、ある種のadenosine類縁体が小胞体ストレスによる細胞障害を著明に抑制することを見出しており、この物質の細胞死抑制に係る分子メカニズムを、UPR主要3経路への影響を中心に解析を行っている。

3. 現在までの達成度

抗炎症機構としての小胞体ストレス/小胞体ストレス応答の役割の解明 (Light Side)

・当初の計画以上に進展している。その根拠は、既に詳細に記した。

組織障害惹起における小胞体ストレス/小胞体ストレス応答の役割の解明 (Dark Side)

・おおむね順調に進展。その根拠は、上述。

小胞体ストレス/小胞体ストレス応答の選択的制御を標的とした治療薬の開発

・当初の計画以上に進展している。その根拠は、既に上記した。

4. 今後の研究の推進方策

組織障害惹起における小胞体ストレス/小胞体ストレス応答の役割の解明 (Dark Side)

に関する検討を継続するとともに、すでに着手をしている小胞体ストレス/小胞体ストレス応答の選択的制御を標的とした治療薬の開発も併せて進める。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者は下線)

[雑誌論文] (計40件) 以下5件、査読有

1. Nakajima S, Hiramatsu N, Hayakawa K, Saito Y, Kato H, Huang T, Yao J, Paton AW, Paton JC, and Kitamura M: Selective abrogation of BiP/GRP78 blunts activation of NF- κ B through the ATF6 branch of the UPR: involvement of C/EBP β and mTOR-dependent dephosphorylation of Akt. *Mol Cell Biol* 31: 1710-1718, 2011.
2. Hayakawa K, Nakajima S, Hiramatsu N, Okamura M, Huang T, Saito Y, Tagawa Y, Tamai M, Takahashi S, Yao J, and Kitamura M: ER stress depresses NF- κ B activation in mesangial cells through preferential induction of C/EBP β . *J Am Soc Nephrol* 21: 73-81, 2010.

3. Harama D, Koyama K, Mukai M, Shimokawa N, Miyata M, Nakamura Y, Ohnuma Y, Ogawa H, Matsuoka S, Paton AW, Paton JC, Kitamura M, and Nakao A: A sub-cytotoxic dose of subtilase cytotoxin prevents LPS-induced inflammatory responses, depending on its capacity to induce the unfolded protein response. *J Immunol* 183: 1368-1374, 2009.
4. Du S, Hiramatsu N, Hayakawa K, Kasai A, Okamura M, Huang T, Yao J, Takeda M, Araki I, Sawada N, Paton AW, Paton JC, and Kitamura M: Suppression of NF- κ B by cyclosporine A and tacrolimus (FK506) via induction of the C/EBP family: Implication for unfolded protein response. *J Immunol* 182: 7201-7211, 2009.
5. Hayakawa K, Hiramatsu N, Okamura M, Yamazaki H, Nakajima S, Yao J, Paton AW, Paton JC, and Kitamura M: Acquisition of anergy to proinflammatory cytokines in non-immune cells through endoplasmic reticulum stress response: A mechanism for subsidence of inflammation. *J Immunol* 182: 1182-1191, 2009.

[学会発表] (計32件)

1. Nakajima S, Huang T, Yao J, and Kitamura M: Anti-inflammatory potential of subtilase cytotoxin: Dual suppression of NF- κ B via induction of C/EBP β and mTOR-mediated dephosphorylation of Akt. 43rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology. Denver, November 16 - 21, 2010.
2. Nakajima S, Hiramatsu N, Hayakawa K, Saito Y, Huang T, Yao J, and Kitamura M: Subtilase cytotoxin suppresses TNF- α -induced activation of NF- κ B via induction of C/EBP β and suppression of Akt. 第32回日本分子生物学会年会, 2009年12月8日, 横浜
3. Kitamura M, Kasai A, Hiramatsu N, Hayakawa K, and Yao J: Direct, continuous monitoring of air pollution by transgenic sensor mice responsive to halogenated and polycyclic aromatic hydrocarbons. 第31回日本分子生物学会年会第81回日本生化学会大会合同大会 2008年12月10-12日, 神戸
4. Hayakawa K, Du S, Hiramatsu N, Kasai A, Okamura M, Huang T, Yao J, Sawada N, Takeda M, and Kitamura M: Suppression of NF- κ B by cyclosporine A and tacrolimus (FK506) via induction of the C/EBP family: Implication for unfolded protein response. 第31回日本分子生物学会年会/第81回日本生化学会大会合同大会 2008年12月10-12日, 神戸
5. Kitamura M, Du S, Hiramatsu N, Hayakawa K, Okamura M, Huang T, Yao J, and Takeda M: Suppression of NF- κ B by cyclosporine A and tacrolimus (FK506) via induction of the C/EBP family: Implication for unfolded protein response. 41st Annual Meeting of The American Society of Nephrology. Philadelphia, November 4 - 9, 2008.

[図書] (計4件)

1. Kitamura M, and Hiramatsu N: Real-time monitoring of ER stress in living cells and animals using ESTRAP assay. *Methods in Enzymology (UPR and Cell Stress)*, Vol. 490, Chapter 5, pp93-106, 2011.
2. 北村正敬: 小胞体ストレスとメサンギウムの細胞応答. *Annual Review 腎臓* 2011 pp30-37
3. 姚建, 北村正敬: Gap Junctionを介した細胞間情報伝達: メサンギウム細胞の動態制御に於ける役割. *Annual Review 腎臓* 2009, pp14-19.
4. 北村正敬: 腎における小胞体ストレス(ER stress)の意義. *Annual Review 腎臓* 2008, P22-30.