

機関番号： 82506  
 研究種目： 基盤C  
 研究期間： 2009～2012  
 課題番号： 21591050  
 研究課題名（和文）  
 多発性嚢胞腎発症におけるERストレスの役割の解明  
 研究課題名（英文）  
 Endoplasmic reticulum stress is involved in the pathogenesis of polycystic kidney disease  
 研究代表者  
 小林 克樹 (Katsuki Kobayashi)  
 国立病院機構千葉東病院 臨床研究センター 遺伝子解析・診断研究室長  
 研究者番号： 40415451

## 研究成果の概要（和文）：

AQP11は腎臓の近位尿細管細胞に発現しているが、AQP11ノックアウトマウスの腎臓では皮質深部の近位尿細管細胞はGRP78を過剰発現し盛んに増殖して、最終的に嚢胞を形成するのに対して、皮質表層～中間層に位置する近位尿細管細胞はCHOPを発現してアポトーシスを起こして死滅していく。CHOPもGRP78もERストレス関連蛋白であることは既知であるので、これらの現象にERストレスが深く関与していることが明らかとなった。

## 研究成果の概要（英文）：

We initially noticed that the proximal tubule cells at the surface to mid cortex became vacuolated and apoptotic, whereas those deeper within the cortex proliferated vigorously and eventually formed cysts. Then by staining kidneys with antibodies against ER-stress-responsive factors, we recognized a strong activation of CHOP expression in the vacuolated and apoptotic proximal tubule cells. This was evidence that the apoptosis was the result of ER stress. In contrast to CHOP, GRP78 expression was augmented exclusively in the deep-cortex proximal tubule cells, a sign of a similar induction of ER stress in these cells. Yet in these cells, the ER stress was followed by cellular proliferation.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21年度	1,900,000	570,000	2,470,000
22年度	1,000,000	300,000	1,300,000
23年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：腎臓学

科研費の分科・細目：

キーワード： AQP11 ERストレス 多発性嚢胞腎 CFTR

## 1. 研究開始当初の背景

AQP11はヒトのアクアポリン水チャンネルファミリーに属する分子として最後に同定された分子である。現在でもその生理機能には不明な点が多いが、興味深いことにAQP11ノックアウトマウスの腎臓近位尿細管細胞には生後1週頃より細胞内空胞が出現し、そのうち腎臓全体が多発性嚢胞腎(PKD)を呈して、生後3週前後で死亡することが明らかとなっている。PKDはヒトの遺伝性疾患としては最も多いものの一つであり、血液透析療法を受けている患者さんの約3%を占めるが、その発症病理はまだまだ明らかでなく、効果的で選択的な治療法も存在しない。

## 2. 研究の目的

そこで、我々はAQP11ノックアウトマウスの病態生理の解明はPKD発症病理に新たな視点を与えるものと考え検討を開始した。まず、AQP11ノックアウトマウスのphenotypeとtunicamycin投与時の腎臓の変化に共通する点が多いことなどから、AQP11がglycosylationを受けていると考えて、この点を検討する。同時に、AQP11ノックアウトマウスの腎臓近位尿細管細胞にはERストレスが生じ、これが最終的なPKD発症に繋がると考え、この点も検討した。

## 3. 研究の方法

まず、tagを付けたAQP11を大腸菌や培養細胞さらにはマウス内で発現させ、glycosylationの有無を検討した。同時にERストレス関連蛋白についての免疫組織染色やウエスタンブロットリングを行った。さらに、PKD発症に係わる分子として近年特に注目されているCFTRに関して、免疫組織染色や阻害薬投与なども行った。

## 4. 研究成果

残念ながら、tagを付加したAQP11の発現は技術的な問題から成功しなかった。しかし、ERストレス関連蛋白についての検討から以下の興味深い結果が得られた。まず、AQP11ノックアウトマウスの腎臓の近位尿細管細胞にはアポトーシスを起こして死滅していく細胞と、盛んに増殖して最終的に嚢胞を形成する細胞が存在することが分かった。前者は皮質の比較的浅いところ即ち表層から中間層に位置する近位尿細管細胞であり、従来の分類ではS1~S2に相当すると考えられる。これらの部位の近位尿細管細胞は、同時に細胞内に著明な空胞が生じる細胞でもあり、生後2週頃にはERストレスによるアポトーシスの実行分子とされているCHOPを大量に発現して死んで

いく。一方で、後者は皮質の深い所に位置する近位尿細管細胞であり、従来の分類上はS3に相当すると判断される。これらの近位尿細管細胞はやはり生後2週頃にはERストレス関連蛋白であるGRP78を過剰発現するようになる。GRP78はCHOPと異なり、アポトーシスを誘導するのではなく、むしろ諸種のストレスに対する耐性を与えかえって細胞増殖を刺激するとされている。実際にGRP78を発現する皮質深部の近位尿細管細胞は細胞増殖を繰り返して、嚢胞上皮細胞に変化していくことが認められた。最後に、CFTRはAQP11の嚢胞上皮細胞で野生型マウスの近位尿細管細胞に比較して強発現していた。従って、AQP11ノックアウトマウスのPKDでも嚢胞内へのCFTRによるCl<sup>-</sup>の分泌が関与していると考えられ、CFTRの阻害薬の投与を行った。しかし、今回我々が行ったAQP11ノックアウトマウスへのCFTR阻害薬の投与では、嚢胞形成に変化は生じなかった。今後さらなる検討が必要と考えられた。

## 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0件)

[学会発表] (計3件)

Katsuki Kobayashi et al. Loss of Aquaporin-11 Causes Both the Apoptosis and the Enhanced Cell Proliferation of the Renal Proximal tubule Cells. Renal Week 2009, Oct 27-Nov 1, 2009, San Diego CA

Katsuki Kobayashi et al. Disruption of Mouse AQP11 Induces Endoplasmic Reticulum Stress, Followed by Apoptosis and Cellular Proliferation, in the Proximal Tubule Cells of the Kidney. Renal Week 2010, Nov16-21, 2010, Denver, CO  
Katsuki Kobayashi et al. CFTR is Highly Expressed in the Cyst-Lining Epithelial Cells of the AQP11 Knockout Mouse Kidney. Kidney Week 2011, Nov 8-13, 2011, Philadelphia, PA

[図書] (計0件)

[産業財産権]

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者  
( )

研究者番号：

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：

○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：