

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 19 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591223

研究課題名(和文) 転写因子 MafB による腎性二次性副甲状腺機能亢進症の制御

研究課題名(英文) The role of Mafb in secondary hyperparathyroidism.

研究代表者

森戸 直記 (Morito, Naoki)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：70463825

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)：腎性二次性副甲状腺機能亢進症におけるMafbの役割を検討した。Mafb+/-、野生型マウスにアデニンを給餌することによりマウスに腎不全を発症させ、副甲状腺機能亢進症を誘導した。Mafb+/-、野生型マウスで比較したところ、野生型マウスでみられた血清intact-PTHの上昇は、Mafb+/-マウスでは抑制されていた。また副甲状腺でのcyclinD1の発現には差がなくcyclinD2の発現に差異がみられた。Mafbのターゲットとして、PTH、cyclinD2が知られておりそれらの転写制御を介して腎性二次性副甲状腺機能亢進症の発症にMafbが関わっていると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Secondary hyperparathyroidism (HPT) is a common disorder in patients with chronic kidney disease (CKD). Recently, it was reported that the transcription factor Mafb is essential for differentiation of parathyroid gland. However, the role of Mafb in secondary hyperparathyroidism is not well known. Six-week-old WT (wild-type) and Mafb+/- mice were fed with adenine containing or normal diet. After 6 weeks of feeding, secondary hyperparathyroidism was assessed. Interestingly, secondary HPT was prevented in Mafb+/- mice. Mafb+/- mice had lower serum PTH levels and smaller parathyroid gland areas compared to their WT littermates after adenine feeding. Moreover, we found lower PTH and cyclinD2 expression in Mafb+/- parathyroid glands. These facts suggest that Mafb directly regulates the PTH and cyclinD2 expression in parathyroid glands. Mafb might play an important role in secondary HPT through PTH and cyclinD2 transcription.

研究分野：腎臓内科

キーワード：2次性副甲状腺機能亢進症

1. 研究開始当初の背景

慢性人工透析患者慢性人工透析患者は現在約 30 万人、高齢化もすすみ患者の QOL や合併症の予防のためにも CKD (慢性腎臓病) における骨ミネラル代謝異常 (CKD-Mineral and Bone Disorder: CKD-MBD) は大きな問題となっている。CKD-MBD は骨の病変を生ずるだけでなく、長期的には血管を含む全身の石灰化を介して生命予後にも影響を及ぼすことが近年注目されている。特に二次性副甲状腺機能亢進症は CKD-MBD でも頻度が高く重要な病態である。

大 Maf 群転写因子は、レトロウイルス AS42 から単離された癌遺伝子 v-maf の細胞関連遺伝子であり、ヒトとマウスではこれまでに MafA, MafB, c-Maf, Nrl の 4 種類が同定されている。大 Maf 群転写因子は、その N 末端側に転写活性化能を有する酸性ドメインを持ち、これを持たない小 Maf 群転写因子とは区別される。また C 末端側には塩基性ドメインとロイシンジッパードメインからなる bZIP ドメインを持っており、この bZIP ドメインを介してホモダイマーやヘテロダイマーを形成し、Maf 認識配列 (MARE; maf recognition element) へと結合することによって遺伝子発現を制御している。これまでに以下の知見が明らかとなっている。

(1) MafB は PTH の発現を制御している。

申請者らは MafB ノックアウトマウスを製作した (Mol. Cell. Biol. 26: 5715-5727, 2006)。このマウスは、生後すぐに呼吸中枢が未熟なため死亡するため生体の機能は明らかではないが、その胎生期の副甲状腺では副甲状腺ホルモン (PTH) の産生が低下していることが報告されている (J Bone Miner Res. 26:2463-2472 2011)。また、PTH 制御領域のヒトとマウス間で保存された部分に Maf 認識配列 (MARE) が存在しており、直接 MafB が PTH を制御している可能性が高い。

(2) MafB は cyclin D2 の発現を制御し、細胞増殖に関わっている。

申請者らは MafB の細胞ホモログである c-Maf の B 細胞における過剰発現マウスを製作した。そのマウスは約 2 年齢で多発性骨髄腫を発症し、病態進行に c-Maf の下流にある cyclin D2 が重要であることを報告した (Cancer Res. 15;71:339-48. 2011)。同様に MafB も cyclin D2 の発現を直接制御していることが知られている (Oncogene 17; 30:1329-1340. 2011)。多発性骨髄腫において c-Maf, MafB はいずれも共通のメカニズムで cyclin D を介してその発症進展に関わっていることが明らかとなっている。

(2) cyclin D は、副甲状腺機能亢進症の発症と進行に関わっている。

原発性副甲状腺機能亢進症の多くの例では cyclin D1 の過剰発現が認められる。同様に PTH promoter を用いた副甲状腺における cyclin D1 過剰発現マウスは約 1 年頃より原発性副甲状腺機能亢進症様の病態を呈することが知られている (J Clin Invest. 107:1093-1102. 2001)。MafB は cyclin D の上流にあることから副甲状腺機能亢進症における細胞周期に影響を与えその増殖に関与している可能性がある。

以上から、MafB は PTH の産生の直接的な調節、および副甲状腺細胞の cyclin D などの細胞周期蛋白を介して副甲状腺機能亢進症に関わっている可能性が高い。

2. 研究の目的

成体の副甲状腺における転写因子 MafB の機能を明らかにし、二次性副甲状腺機能亢進症における MafB の役割を解明することである。これらの解明から MafB が二次性副甲状腺機能亢進症の治療ターゲットとなる可能性がある。

3. 研究の方法

MafB ^{-/-}マウスは生後すぐ死亡してしまうため、6週齢の MafB ^{+/-} マウスを用いた。アデニン含有食(0.2%)を6週間給餌することにより、野生型(WT)マウスと MafB ^{+/-} マウスに腎不全を誘導した。12週齢で、血清学および組織学的に腎機能及び二次性副甲状腺機能亢進症を評価した。

4. 研究成果

野生型マウスと MafB ^{+/-} マウスは、アデニン給餌により同様に腎不全が誘導され、腎組織障害の程度及び血清尿素窒素、クレアチニンなどの腎機能には差がみられなかった。

興味深いことに、MafB ^{+/-} マウスは野生型マウスに比べ、血清副甲状腺ホルモン(PTH)上昇と副甲状腺面積の増加が抑制されていた。TUNEL染色でapoptosisの評価を行ったが、両群で副甲状腺のTUNEL陽性細胞に差はみられなかった。一方、Ki-67染色では、Ki-67陽性細胞がMafB ^{+/-} マウスで野生型マウスに比べ減少しており、副甲状腺の細胞増殖がTUNEL^{+/-} マウスで抑制されている可能性が示唆された。

RT-PCRでは副甲状腺のPTHとcyclin D2の発現の上昇がMafB ^{+/-} マウスで抑制されていた。PTHとcyclin D2のプロモーター領域にはMafbの結合領域(MARE)がありMafbが直接PTHとcyclin D2を制御していると考えられた。

【結論】MafBはPTHとcyclin D2を直接制御して二次性副甲状腺機能亢進症の進行に関わっている可能性があり、治療のターゲットになる可能性がある。

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7件)

1: Morito N, Yoh K, Ojima M, Okamura M, Nakamura M, Hamada M, Shimohata H, Moriguchi T, Yamagata K, Takahashi S. Overexpression of Mafb in podocytes protects against diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol. 2014;25(11):2546-57.

2: Kihara M, Ito K, Nakata J, Otani M, Tran NL, Morito N, Takahashi S, Wada Y, Izui S. O-linked glycosylation determines the nephritogenic potential of IgA rheumatoid factor. J Am Soc Nephrol. 2014;25(6):1282-90.

3: Yu L, Moriguchi T, Souma T, Takai J, Satoh H, Morito N, Engel JD, Yamamoto M. GATA2 regulates body water homeostasis through maintaining aquaporin 2 expression in renal collecting ducts. Mol Cell Biol. 2014;34(11):1929-41.

4: Okamura M, Yoh K, Ojima M, Morito N, Takahashi S. Overexpression of GATA-3 in T cells accelerates dextran sulfate sodium-induced colitis. Exp Anim. 2014; 63(2):133-40.

5: Okada K, Ma D, Warabi E, Morito N, Akiyama K, Murata Y, Yamagata K, Bukawa H, Shoda J, Ishii T, Yanagawa T. Amelioration of cisplatin-induced nephrotoxicity in peroxiredoxin 1-deficient mice. Cancer Chemother Pharmacol. 2013; 71:503-509.

6: Tsuruoka S, Kai H, Usui J, Morito N, Saito C, Yoh K, Yamagata K. Effects of irbesartan on inflammatory cytokine concentrations in patients with chronic glomerulonephritis. Intern Med. 2013;52(3):303-8.

7: Harada N, Ito K, Hosoya T, Mimura J, Maruyama A, Noguchi N, Yagami K, Morito N, Takahashi S, Maher JM, Yamamoto M, Itoh K. Nrf2 in bone marrow-derived cells positively contributes to the advanced stage of atherosclerotic plaque formation. Free Radic Biol Med. 2012 Dec 15;53(12):2256-62.

〔学会発表〕(計4件)

1、Morito N, Yoh K, Fujita A, Yamagata K. The Role of Mafb in secondary hyperparathyroidism due to chronic kidney disease. 51st ERA-EDTA Congress, Amsterdam, The Netherlands (May 31-June 3, 2014)

2、Morito N, Yoh K, Fujita A, Yamagata K. The Role of Mafb in diabetic nephropathy. 50th ERA-EDTA Congress, Paris, France (May 24-27, 2012)

3、二次性副甲状腺機能亢進症における Mafb の役割
森戸直記, 楊景堯, 藤田亜紀子, 山縣邦弘
第 57 回日本腎臓学会総会 2014 年 7 月 4 日-6 日、横浜

4、シスプラチン腎症における c-Maf の役割
森戸直記, 楊景堯, 藤田亜紀子, 山縣邦弘
第 56 回日本腎臓学会総会 2013 年 5 月 10 日-12 日、東京

〔図書〕(計1件)

Annual Review 腎臓 2014 中外医学社
MafB による糸球体上皮細胞足突起構成分子の発現制御、森戸直記 pp35-40 (分担)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.tsukuba-kidney.com/>

6. 研究組織

(1)研究代表者
森戸直記 (MORITO, NAOKI)
筑波大学医学医療系・講師
研究者番号：20590944

(2)研究分担者
楊景堯 (YOH, KEIGYOU)
筑波大学医学医療系・准教授
研究者番号：90323302