

公募助成「腎不全病態研究助成」研究サマリー

研究名	腎移植ドナー生検組織をもちいた Klotho 遺伝子発現の生理的意義に関する研究
所属機関	自治医科大学附属病院 腎臓センター外科部門
氏名	木村貴明
<p>1. 研究目的</p> <p>Klotho 遺伝子の生理的意義を確認するために、腎臓移植ドナーの生検組織から Klotho 遺伝子と抗酸化ストレス遺伝子や細胞・組織傷害に関連する p53 遺伝子の発現量、腎機能や年齢、生化学的検査、病理組織学的所見との関連を検討した。さらに、Klotho 遺伝子過剰発現マウスや Klotho 遺伝子欠損マウスを用いて、Klotho 遺伝子発現の効果の検討を行った。</p> <p>2. 研究方法</p> <p>腎移植ドナー44 例を対象とした。0 時間生検として採取した組織の一部からリアルタイム PCR 法で Klotho、p53、抗酸化ストレス遺伝子発現量を測定した。また、組織学的評価として、糸球体硬化数と間質線維化と尿細管萎縮の割合を評価した。動物実験として、8 週齢の Klotho 過剰発現マウスと Klotho 欠損マウスの腎臓にて、同様の遺伝子発現量を評価した。さらに、これらのマウスの腎臓からのタンパク質を抽出し、western blotting 法により酸化ストレス蛋白を評価した。</p> <p>3. 研究成果</p> <p>すべての遺伝子の発現量は 1.5 倍の範囲内であった。Klotho 遺伝子発現量は、年齢、腎機能、糸球体硬化度や間質線維化および尿細管萎縮、血清カルシウム、血清リン、尿中カルシウム排泄率、尿中リン排泄率とは有意な相関を認めなかったが、p53、catalase、superoxide dismutase 1 (SOD1)、SOD2、peroxiredoxin3 (PRDX3)、glutathione peroxidase 1 (GPX1) 遺伝子発現量と有意な正の相関関係を認めた。重回帰分析でも Klotho 遺伝子発現量は、これらすべての遺伝子の発現量の独立した予測因子であった。Klotho 過剰発現マウスの p53、catalase、SOD1、SOD2、SOD3、PRDX3、GPX1 遺伝子発現量は、野生型マウスと比較して有意に高値であった。一方、Klotho 欠損マウスでは、p53、SOD1、SOD2、SOD3 遺伝子発現量が野生型マウスと比較して有意に低値であった。様々な分子サイズの nitrotyrosine 陽性蛋白が Klotho 欠損マウスの腎臓で確認された。しかし、Klotho 過剰発現マウスと野生型マウスでは nitrotyrosine 陽性蛋白の発現量の違いを確認できなかった。</p> <p>4. 結語</p> <p>本研究により、ヒト腎臓では、Klotho 遺伝子発現量と p53 および抗酸化ストレス酵素遺伝子発現量との関連性が確認され、動物実験により、Klotho 遺伝子発現がこれらの遺伝子の発現を誘導し、Klotho 遺伝子の欠乏はこのメカニズムの作動が乏しいため、酸化ストレスが亢進すると考えられた。ヒト腎臓における Klotho 遺伝子の生理的効果として、酸化ストレスからの保護作用が示された。</p>	