

公募助成「CKD（慢性腎臓病）病態研究助成」研究サマリー

研 究 名	慢性腎不全において血管石灰化を促すライソゾーム不全の機序解明
所 属 機 関	防衛医科大学校・生理学講座
氏 名	石渡 遼
<p>Transcription Factor EB (TFEB) は、ライソゾーム生合成を調節するマスター転写因子として知られているが、血管石灰化の病態における TFEB の機能は不明であった。本研究では、TFEB の機能低下が血管石灰化に関与している、という仮説を検証し、以下の結果を得た。</p> <p>■ 高リン酸環境では、血管平滑筋における TFEB 量が減少する。</p> <p>マウス大動脈の器官培養系およびラット・ヒトの大動脈平滑筋細胞の培養系で、リン酸は濃度依存的に石灰化を亢進し、TFEB タンパク質の量を減少させた。マウス大動脈の器官培養系では、石灰化形成を認める血管中膜における TFEB の減少が認められた。</p> <p>■ TFEB のノックダウンにより、石灰化の形成は亢進した。</p> <p>ラット大動脈平滑筋細胞において、siRNA による <i>Tfeb</i> 遺伝子のノックダウンを行った。リン酸負荷依存性の石灰化形成は、TFEB ノックダウン群で有意に亢進していた。RNA-seq 解析の結果、TFEB ノックダウン群では、ライソゾーム関連遺伝子群に加えて細胞分裂関連の遺伝子群の発現が低下していた。また、TFEB ノックダウンにより平滑筋細胞のアポトーシスが亢進していることが明らかとなった。</p> <p>■ 慢性腎不全モデルにおける血管石灰化の形成時期には TFEB の減少が認められた。</p> <p>アデニン食によるラット慢性腎不全モデルにおいて、大動脈組織の石灰化の程度と TFEB タンパク質の量には負の相関が認められた。また、石灰化部位を中心としてライソゾーム損傷が認められることが、Galectin-3 染色から明らかとなった。さらに、石灰化を来した大動脈組織では、TFEB を含むタンパク質のユビキチン化が亢進していることが認められ、ユビキチン-プロテアソーム系による TFEB の分解が生じている可能性が示唆された。ラット大動脈平滑筋細胞で、リン酸依存性の TFEB 減少は、プロテアソーム阻害剤 MG-132 によって抑制されたことから、この仮説が支持される結果となった。</p> <p>■ TFEB の過大発現はラット大動脈平滑筋細胞の石灰化を抑制しなかった。</p> <p>ラット大動脈平滑筋細胞において、アデノ随伴ウイルスを用いて、<i>Tfeb</i> 遺伝子の過大発現を行った。しかし、タンパク質レベルでは、MG-132 添加時においてのみ過大発現が認められ、生理的条件下においてもプロテアソームによる TFEB 分解が機能していることが推察された。AAV 添加群における血管石灰化の程度は対照群よりも低い傾向はあったが有意ではなかった。</p> <p>以上、得られた結果は論文報告した。Ishiwata R, and Morimoto Y. Hyperphosphatemia-induced degradation of transcription factor EB exacerbates vascular calcification. <i>Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease</i> 1868: 166323, 2022.</p>	