

## 主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

瀧 康洋

専攻分野：内科学

コース：腎臓・高血圧内科

指導教授：柴垣 有吾

主論文の題目：

**Proteomic Analysis Reveals the Association between the Rho-GDI Signaling Pathway and Kidney Injury in Spontaneously Hypertensive and Hyperlipidemic Rats.**

(自然発症高血圧・高脂血症ラットの腎臓に対するプロテオミクス解析で明らかにした Rho-GDI signaling と腎障害の関連性)

共著者：

Masayuki Oda, Anna Sedukhina, Atsuko Ikemori, Naoki Matsumoto, Yugo Shibagaki, Toshio Kumai

緒言

慢性腎臓病 (Chronic Kidney Disease: CKD) は世界中で増加しており、本邦でも患者数が 13.3 万人と増加し問題となっている。CKD のリスクファクターとして、高血圧や脂質異常症、糖尿病が知られている。我々は、自然発症高血圧・高脂血症モデルラット (Spontaneously Hypertensive and Hyperlipidemic Rats: SHHRs) に高脂肪食、高糖水 (high fat diet and 30% sucrose: HFDS) を負荷することで、高血圧、脂質異常症、および高血糖となることを報告している。今回我々は SHHRs を用いて、高血圧、脂質異常症、および高血糖状態が腎臓に及ぼす影響をプロテオミクス解析により検討した。

## 方法・対象

Sprague Dawley (SD) ラットと SHHRs にそれぞれ普通食 (normal diet: ND)、HFDS を 6 か月間与え、計 4 群で比較検討した。まず、ラットの臓器脂肪量、精巣脂肪量、酸化ストレスマーカーである derivatives of reactive oxygen metabolite (d-ROM) を測定した。次にそれぞれの群の腎臓を摘出し、Nano-HPLC/ESI-ion trap-MS/MS 法にてプロテオミクス解析を行った。また、この結果を Ingenuity Pathway Analysis (IPA) にて Pathway 解析した。遺伝子の発現量は定量 PCR 法により測定した。IPA の統計解析には Fisher の正確検定で、多群比較には Tukey-Kramer post hoc test で解析した。なお、本研究は聖マリアンナ医科大学動物実験規程を遵守して動物実験を行った (第 1502017 号)。

## 結果

臓器脂肪量は SD-ND 群と SD-HFDS 群の間で有意な差はなかったが、SHHRs においては HFDS により有意に増加した ( $p < 0.01$ )。血清中の d-ROM は、SD ラットと SHHRs 共に HFDS により有意に増加した ( $p < 0.01$ )。次に、SD ラットおよび SHHRs の腎臓に対してプロテオミクス解析および IPA を行った。その結果、Rho-GDI signaling 経路に含まれるタンパク質の量が、SHHR-ND 群と SHHR-HFDS 群の間で多く変動していた。SHHR-HFDS 群において、Rho-GDP dissociation inhibitor (Rho-GDI) と Rho GTPase-activating protein (Rho-GAP) のタンパク質量が他群と比較して低値を、p21-activated kinase (PAK) のタンパク質量が高値を示した。また、Rho-GDI の遺伝子発現量はタンパク質と同様に低値を示し、Rho-GAP の遺伝子発現量は SD ラットおよび SHHRs の両群で HFDS 負荷により有意に低下した。PAK の遺伝子発現量は、SD ラットおよび SHHRs の両群で HFDS 負荷により有意に増加した。さらに、腎臓中の Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) の遺伝子発現量は、SHHR-HFDS 群において他群と比較して有

意に高値を示した ( $p < 0.01$ )。

## 考察

今回我々は、SHHRs の腎臓に対してプロテオミクス解析を行い、高血圧、脂質異常症、高血糖状態において Rho-GDI signaling 経路が腎障害に寄与していることを見出した。

Rho-GTPases に代表される G タンパク質は、生体機能に幅広く関与している。Rho-GTPases は、GDP 結合型で不活性、GTP 結合型で活性の状態になるが、このスイッチを調節するタンパク質として Rho-GAP や Rho-GDI が知られており、Rho-GTPases を GDP 結合型にしている。一方、PAK は Rho-GTPase family である RAC1 と CDC42 のエフェクターであり、RAC1 と CDC42 の下流シグナルを活性化している。今回、SHHR-HFDS 群の腎臓において、Rho-GAP と Rho-GDI の発現量が低値を、PAK の発現量が高値を示したことから、GTP 結合型の Rho-GTPases が SHHR-HFDS 群の腎臓において増加し、下流のシグナルを活性化させている可能性が示唆された。さらに、NGAL の遺伝子発現量が SHHR-HFDS 群の腎臓において有意に増加していたことから、SHHR-HFDS 群の腎臓は Rho-GDI signaling を介して障害されることが示唆された。

## 結論

我々は、HFDS を負荷した SHHRs において、Rho-GDI signaling を介し腎障害が惹起されていることを明らかにした。本研究成果は、高血圧や脂質異常症、高血糖により引き起こされる CKD の治療戦略の有益な情報となり得るだろう。