

mTORC1 activation triggers the unfolded protein response in podocytes and leads to nephrotic syndrome

伊藤 紀子

杏林大学医学部 小児科学教室

小児のネフローゼ症候群は、その約 80%を微小変化群 (MCD) が占める。しかし、その蛋白尿発症の機序はいまだに解明されていない。

尿は腎糸球体で血液が濾過されて生成されるが、その際血漿蛋白の漏出を制御する重要な構成要素に、糸球体上皮細胞 (ポドサイト) がある。多くの糸球体疾患においてポドサイト障害が蛋白尿発症に関与していることが指摘されてきたが、当研究室では以前、MCD の蛋白尿発症に、ポドサイトにおける unfolded protein response (UPR) が関与していることを報告した (Nakajo A et al. *JASN* 2007)。

すなわち、細胞内で翻訳された蛋白は、ATP 依存性に小胞体で適切に折りたたまれ (folding)、その後さらに糖鎖修飾等を受けて細胞膜や細胞外へ輸送される。同時に misfolded protein を貯め込まない機構が働いているが、この機能が破綻すると小胞体内に misfolded protein が貯留し、細胞内での蛋白合成系が抑制され、細胞にとって本来必要な蛋白を合成できない状態になる。これが UPR で、ポドサイトにおいては、糸球体サイズバリアの構成に必須である膜蛋白 - nephrin の正常な発現が低下し、蛋白尿が出現する。しかしながら、UPR を惹起する因子は不明であった。

一方で Daniel らは、MCD のラットモデルで、mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) 阻害薬の前投与が蛋白尿を抑制するという報告をした (Daniel C et al. *Exp Nephrol* 2000)。mTORC1 signaling は、細胞内の蛋白合成を促進する伝達系で、大量の細胞内エネルギーを消費する。そこで我々は、ポドサイトにおける mTORC1 の活性化が細胞内エネルギー平衡系を破綻さ

せ、UPR を惹起するという仮説を立て、本研究を行った。

まず、MCD モデルである Puromycin aminonucleoside ラット (PAN ラット) を作成し、腎切片の酵素抗体法、免疫蛍光抗体法、単離糸球体の Western Blot 法、real time PCR 法を用いて検討した。このモデルでは蛋白尿が day 2 から出現するが、同日より nephrin の発現は減少していた。それに先立ち day1 にポドサイトで UPR と mTORC1 の活性化がみられ、以後持続した。また、nephrin の蛋白発現量が低下していく一方で、mRNA レベルの発現量は day2 に一時的にむしろ増加していた。これは蛋白合成過程のうち、翻訳後の過程における障害、すなわち UPR の存在を示していた。

さらに培養マウスポドサイトの実験では、PAN 添加 3 時間後に mTORC1 の活性化がみられ、UPR は遅れて 24 時間後から活性化がみられた。また、実際に細胞内の energy charge $((ATP) + 1/2(ADP)) / ((ATP) + (ADP) + (AMP))$ を測定すると 3 時間後から経時的に減少しており、mTORC1 の活性化により蛋白合成系が亢進し、細胞内の ATP が消費されたことが発端となって UPR が惹起されたことが示された。

また、mTORC1 の阻害薬である everolimus の前投与により、PAN ラットの蛋白尿出現を有意に阻止できることも証明した。これは、ポドサイト内の ATP 消費、それに続く UPR を抑制し、nephrin の発現低下を救済しえた結果であった。

本研究は、ステロイドに替わる MCD の新しい治療標的として、ポドサイト内のエネルギー制御系の関与を初めて報告したものである。