

令和元年5月9日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09277

研究課題名(和文) ROCK2によるポドサイト機能調節機構と糖尿病腎症への関与

研究課題名(英文) ROCK2 regulation of podocyte function in diabetic kidney disease

研究代表者

宇都宮 一典 (Utsunomiya, Kazunori)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：50185047

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)：糖尿病腎症は慢性透析の主要な原疾患であり、医療経済的にも病態の解明と新規薬剤の開発が求められている。本研究では細胞内シグナル伝達を担うROCK2に着目し、糸球体の構造障害にこのROCK2が関与することを細胞実験で明らかにした。続いて生体における意義を検討するため、腎臓でROCK2の遺伝子改変を行ったマウスを独自に作製した。今後、この遺伝子改変マウスを用いて糖尿病腎症の進行過程でROCK2がどのように関与するかを明らかにする。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ROCKは低分子量GTP結合タンパク質Rhoの標的タンパク質として同定されたセリン・スレオニンキナーゼである。これまでの国内外における研究により、ROCKは細胞収縮や増殖、遊走、遺伝子発現誘導等、細胞の重要な生理機能に関与することが示されている。また各種疾患モデル動物を用いた研究によってROCKの活性亢進が様々な病態を悪化させる原因となっていることが明らかになり、創薬のターゲットとして注目されている。本研究によってROCK2が糖尿病腎症の進展で重要な因子であると明らかになれば、今後これを標的とした有効な治療薬開発へつながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Diabetic kidney disease (DKD) remains leading cause of end stage renal disease and therefore a major burden on the healthcare system. Activation of ROCK pathway leads to the phosphorylation of downstream substrates, including myosin phosphatase target subunit, which has been postulated to control a variety of cellular functions such as cell proliferation, contraction, migration, and transcriptional regulation. A series of recent animal model studies have implicated ROCK signaling in cardiovascular and renal disease. In the present study, we identified ROCK2 as an important regulator of glomerular podocyte biability using cultured cells. In order to elucidate the role of ROCK in vivo, we generated podocyte-specific ROCK2 deletion mice. Gene expression and immunohistochemical studies will be performed in the mice to fully determine the significance of ROCK2 in the process of DKD.

研究分野：糖尿病学

キーワード：糖尿病腎症 糸球体上皮細胞 ポドサイト Rho-kinase ROCK2

1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者の増加とともに、糖尿病腎症（以下、腎症）を有する患者数は世界的規模で増加の一途を辿っている。腎症から慢性透析に移行した患者の生存率は、他の病態に起因する透析患者と比べて著しく不良である。英国で行われた大規模臨床試験 UK Prospective Diabetes Study (UKPDS)のサブ解析によると、腎症を有する糖尿病患者の死亡率は腎機能低下にともなう増加し、腎不全期では年間に20%近い患者が主に心血管疾患によって死亡している(Adler *et al.* *Kidney Int.* 2003)。腎症の病態解明は末期腎不全への進展を阻止する新たな治療戦略の構築につながることから、学究的な側面のみならず、透析医療を取り巻く経済的側面からも喫緊の課題となっている。

腎症の初期には、腎系球体の過剰濾過と肥大が起こる。その後、アポトーシスによって細胞数は減少し、最終的に糸球体と間質の線維化によって腎不全に至る。この血行動態変化や線維化の過程にはレニン・アンジオテンシン系が関与しており、腎症における最も重要な治療標的とされてきた。しかし、アンジオテンシン変換酵素阻害薬やアンジオテンシン II 受容体拮抗薬といった薬剤を用いても、腎不全への進行を完全に阻止することは不可能である。一方、細胞内 Rho-kinase (ROCK)シグナルが糖尿病をはじめとする生活習慣病の病態に関与すると言われている。

低分子量 GTP 結合蛋白 Rho と下流分子 ROCK は、アクチンストレスファイバーの脱重合やミオシン軽鎖のリン酸化による細胞形態や伸縮性の調節をはじめ、細胞の遺伝子発現にも関与する。申請者らはこれまで、この Rho/ROCK シグナル経路が腎症の進展過程で重要な意義を有することを示してきた。すなわち、糖尿病モデル動物の腎皮質では ROCK が活性化されており、転写因子 nuclear factor- κ B (NF- κ B)の活性化を介した炎症性サイトカインの産生(Matoba *et al.* *Biochem Biophys Res Commun.* 2010)や腎組織への炎症細胞浸潤(Matoba *et al.* *Am J Physiol Renal Physiol.* 2014)、低酸素誘導因子 hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1)の集積を介した糸球体硬化(Matoba *et al.* *Kidney Int.* 2013)、Notch シグナルによる糸球体上皮細胞 (podocyte)のアポトーシスと脱落(Matoba *et al.* *Int J Mol Sci.* 2017)を誘導することを明らかにした。

一方、ROCK には ROCK1、ROCK2 という二つのアイソフォームが存在し、両者とも全身に広く発現している。各アイソフォームの活性化に至る分子機序は異なっており、ROCK1 は caspase-3、ROCK2 は granzyme B による切断で活性が制御されている。全身の遺伝子欠損マウスでもそれぞれ異なる表現型を呈することから、各アイソフォームは独自の機能を有すると想定されている。ROCK1 は糸球体上皮細胞のミトコンドリア機能や、糸球体内皮細胞の間葉移行に関与するとされる。一方で ROCK2 は特発性肺線維症や乾癆への病態関与が明らかになり、現在国外で ROCK2 阻害薬の臨床試験が腎症以外の疾患を対象に進められているが、腎組織 ROCK2 の生理的機能や、腎症の進展過程における病態的意義は未だ明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究では、腎組織における ROCK2 の生理的役割、糖尿病腎症の進展過程における病態的意義を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、分子生物学的手法を用いて腎系球体上皮細胞における ROCK2 のアイソフォーム特異的な役割を明らかにする。ROCK2 は全身に発現すること、systemic ROCK2 knockout マウスは血栓形成と胎盤機能不全によって胎生致死となることから(Thumkeo *et al.* *Mol Cell Biol.* 2003)、腎組織での役割を解明するには臓器特異的遺伝子改変動物が不可欠であり、その作製から研究計画を立案した。

4. 研究成果

ROCK2 flox マウスを独自に樹立した(図1)。

ナルの意義。第 72 回日本栄養・食糧学会。

永井 洋介, 川浪 大治, 的場 圭一郎, 竹田 裕介, 石澤 将, 金澤 康, 横田 太持, 宇都宮 一典. Rho-kinase はメサンギウム細胞において CTGF の発現を制御する。第 32 回日本糖尿病合併症学会。

永井 洋介, 川浪 大治, 竹田 裕介, 的場 圭一郎, 石澤 将, 金澤 康, 横田 太持, 宇都宮 一典. Rho-kinase はメサンギウム細胞において CTGF の発現を制御する。第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会。

竹田 裕介, 川浪 大治, 永井 洋介, 的場 圭一郎, 石澤 将, 金澤 康, 横田 太持, 宇都宮 一典. Rho-kinase によるポドサイト機能調節機構と糖尿病腎症への関与。第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会。

川浪 大治, 的場 圭一郎, 竹田 裕介, 永井 洋介, 石澤 将, 金澤 康, 横田 太持, 宇都宮 一典. Rho-kinase によるポドサイト調節機構と糖尿病腎症への関与。第 31 回日本糖尿病合併症学会。

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：川浪 大治

ローマ字氏名：Kawanami Daiji

所属研究機関名：東京慈恵会医科大学

部局名：内科学講座 糖尿病・代謝・内分泌内科

職名：准教授

研究者番号 (8 桁): 50568889

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。