

令和元年6月8日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05314

研究課題名(和文) 蛋白分解系によるWNKシグナル調節機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of regulatory mechanism of WNK signal by protein degradation system

研究代表者

蘇原 映誠 (SOHARA, Eisei)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・准教授

研究者番号：90510355

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：WNKキナーゼは遺伝性高血圧症の原因遺伝子であり、我々はそのシグナル系を解明し、血圧調節に重要な役割を担っていることを示してきた。本研究は、同疾患において新規に原因遺伝子として発見されたKLHL3とCullin3によるWNKキナーゼ分解系の、塩分感受性高血圧における生理的意義とその制御機構を明らかにすることにより、高血圧の新たな知見と新規治療ターゲットを得ることを目的とする。さらにWNKシグナルの未知の基質や下流分子の同定を目指し、それに基づいた新しい治療戦略と方法を、我々の阻害薬スクリーニングシステムも用いて導き出したい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、遺伝性高血圧疾患において新規に発見されたKLHL3とCullin3によるWNK分解系を転写からリン酸化蛋白修飾まで幅広い新規機構を明らかにすることができた。特に、KLHL2/3、Cullin3遺伝子改変マウスの作成により本制御系の破綻がもたらす病態を明らかにした。さらに研究を進展させ、遺伝子改変マウス等を駆使して様々な臓器や病態での新たなWNKシグナルの機能探求を明らかにし、WNKキナーゼの新規の基質や下流分子を同定しており、今後、臨床への発展も目指していきたい。

研究成果の概要(英文)：Mutations in the with-no-lysine kinase 1 (WNK1), WNK4, kelch-like 3 (KLHL3), and cullin3 (CUL3) genes are known to cause the hereditary disease pseudohypoaldosteronism type II (PHAII). In this project, we generated Cul3 knock-in PHAII model mice and KLHL3<sup>-/-</sup> mice. KLHL3<sup>-/-</sup> mice showed PHAII-like phenotypes, whereas KLHL3<sup>+/-</sup> mice did not. We further demonstrated that the dimerization of KLHL3 can explain this dominant negative effect. We also found that KLHL3 expression was decreased in CUL3<sup>WT/ex9</sup> mice. These findings indicate that the decreased abundance of KLHL3 is a specific phenomenon caused by mutant CUL3 (exon9). In this study, we clarified WNK kinase degradation system by KLHL3 and Cullin3. We have also investigated the function of WNK kinase in the organ other than kidney, and found that WNK4 is an adipogenic factor and its deletion reduces diet-induced obesity in mice.

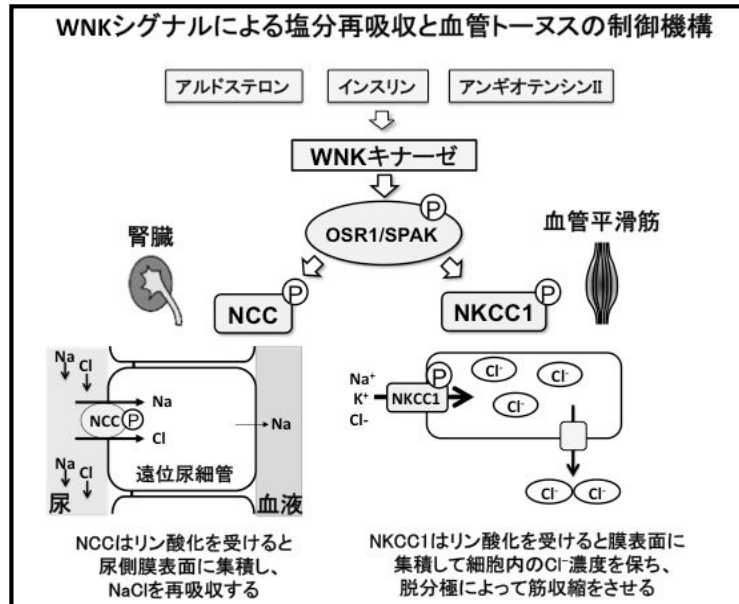
研究分野：腎臓内科

キーワード：WNKキナーゼ 塩分感受性高血圧 蛋白分解系

1. 研究開始当初の背景

WNK キナーゼは、その遺伝子異常が偽性低アルドステロン症 II 型

(pseudo-hypoaldosteronism type II: PHAII) という塩分感受性高血圧症を引き起こす。我々は、WNK キナーゼの基質に OSR1/SPAK キナーゼ、さらにその基質として SLC12A 輸送体分子の存在を明らかにし、それらが腎臓の塩分排出調節および血管のトーン調節に重要な WNK-OSR1/SPAK-SLC12A シグナル伝達系を構成していることを明らかにした (Cell Metab 2007 など)。さらにこの系は、塩分摂取に応じて制御され



ている事や (Kidney Int 2008) インスリン (PLoS One 2011, Hypertension 2012)、アンジオテンシン II (BBRC 2010)、アルドステロン (Kidney Int 2008) などの液性因子によって制御を受ける事を報告し、一般的な塩分感受性高血圧発症に関わることを示してきた。例えば、塩分過剰なら WNK シグナルは抑制されて、塩分再吸収を抑える事によって体内から塩を捨てようとする調節をする。しかし、肥満患者では高インスリン血症による WNK シグナル亢進によって、塩分の体外への適切な排出ができずに塩分感受性高血圧が起きる事を我々は報告し、大規模臨床研究で示された NCC 阻害薬のサイアザイド剤が肥満患者でより有効である機序を明らかにした (Hypertension 2012)。このような WNK シグナルの発見や塩分感受性高血圧における重要性を明らかにした事などで、申請者 蘇原は日本腎臓学会大島賞(2013)、Young Investigator Award of Asian Nephrologist (APCN) (2014) を受賞した。2012 年、PHAII の新たな原因遺伝子として Kelch-like 3 (KLHL3) と Cullin3 (Cul3) が明らかになり、KLHL3 が Cul3 と複合体を形成し、WNK キナーゼの E3 コピキチンリガーゼとして機能する事を我々は示した (Cell Reports 2013, Hum Mol Genet 2014)。KLHL3 は WNK キナーゼをユビキチン化し、WNK 蛋白質量の減少をもたらす、それに対して PHAII を引き起こす変異 KLHL3 は WNK ユビキチン化を阻害して WNK の量を増加させることを示した。この WNK 分解障害による WNK 蛋白増加が下流の WNK-OSR1/SPAK-NaCl 共輸送体 (NCC) シグナル系の過剰亢進を起こし、PHAII における高血圧の原因となること、すなわち、WNK のユビキチン化障害そしてその結果としての WNK 分解障害が PHAII 発症の共通の病態であることを報告した。これは難病である PHAII の病態解明だけでなく、塩分摂取が高血圧につながる蛋白分解機構を明らかにしたという点で、非常に重要であった。また、WNK3 / KLHL2 も血管平滑筋に存在して WNK キナーゼのユビキチン化と蛋白分解を制御し、血管トーンを調整することも報告した (Hypertension 2013, JASN 2015)。これらの研究は新規原因遺伝子 KLHL3 の PHAII という難病での働きは明らかにしたが、KLHL/Cul3 複合体の生理的な制御は細胞レベルでその一端が明らかになりはじめたところであり、不明なところが未だ多い。KLHL/Cul3 複合体による WNK 分解シグナル系の生理的制御の解明は、塩分感受性高血圧に新しい知見と治療ターゲットを生み出すと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、まず PHAII 患者で新規に発見された KLHL/Cul3 複合体による WNK 分解系の詳細なメカニズムを探求し、塩分感受性高血圧における生理的な役割と機能を明らかにしたい。これは高血圧患者に対する新規治療ターゲットの開発にもつながる。さらに、我々は WNK シグナルの重要な構成分子について多くの遺伝子改変マウスを保有し、血圧以外の興味深い表現系も既に得ており、他臓器での WNK シグナルの重要性も明らかにしていく。塩分摂取で調節をつける WNK シグナルが肥満や免疫などの領域まで関連づけられれば高インパクトの全く新しい知見になる。また、新たな WNK シグナルの基質などを明らかにし、創薬へ繋げていく。研究期間内に以下の事項を明らかにしたい。

- (1) KLHL/Cul3 複合体による WNK 分解系の制御メカニズムの解明：新規 KLHL/Cul3 複合体による WNK 分解機構について転写の調節といった基本的事項から蛋白修飾に至るまで幅広く探求する。特に最近我々は p62 と KLHL の結合を介した WNK 分解を証明しており、遺伝子改変マウスを用いた選択的オートファジーによる WNK シグナル制御、さらに発展させて水電解質排出機構や血管トーン調節機構における選択的オートファジーの働きを解明したい。
- (2) KLHL2/3, Cul3 遺伝子改変マウスの作成と解析：病態モデルノックインマウスやノックアウトマウス作成によって生体内での KLHL-Cul3 複合体による WNK 分解異常が起こす真の病態を明ら

かにするとともに、難病指定されている PHAII の新規治療法検討モデルとしても活用する。  
(3)KLHL/CuI3/WNK シグナルの各臓器での働きの解明：「塩分感受性の亢進」は、血圧実測値とは独立した、多様な疾患や病態の危険因子である事が臨床研究で証明されている (Felder et al. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2013)。これは、塩分感受性亢進を起こす WNK シグナルが血圧だけでなく、種々の臓器や病態に影響を与えていることを強く示唆する。実は WNK 関連の遺伝子改変マウスで抗肥満作用など、すでに我々は血圧以外の表現系を発見しており、WNK シグナルと各病態との全く新しい知見を得ると同時に、それに基づいた新しい治療ターゲットを明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1)WNK-KLHL-CuI in3 複合体発現の生理的な制御：本研究では塩分と血圧の調節機構である新規 KLHL-CuI in3 複合体の生理的な制御機構を明らかにする。まずは培養細胞実験で WNK シグナル制御因子によって KLHL3 の転写や蛋白量がどのように変化するかを調べる。さらに KLHL2 の発現機構も検証する。特に、血管平滑筋細胞での細胞外カリウムによる KLHL2 を介した WNK 発現の調節を発見しており、この知見からカリウム摂取によりアルドステロン亢進にもかかわらず血圧が下がるという“アルドステロンパラドックス”の機序を明らかにしたい。

(2)WNK/KLHL/CuI in3 の翻訳後修飾を介した WNK シグナル制御：質量分析より同定された KLHL3 リン酸化部位がリン酸化すると WNK が捉えられなくなる事と、PKA/Akt で同部位がリン酸化される事を細胞レベルで報告した(BBRC 2015)。これは高インスリン血症(Akt)や脱水時(PKA)などにおける WNK シグナル亢進に関わると考えられ、完成したリン酸化抗体を用いて生体で検証する。また、KLHL2 には同じモチーフがあり、その上流因子とともに検討する。

(3)KLHL2/3, CuI in3 遺伝子改変マウスの作成：WNK 分解障害に関わる病態の解明のためには、遺伝子改変マウスの作成と解析が不可欠である。KLHL3 プロモーター下に LacZ を組み込んだノックインマウスは完成しており、KLHL3 の発現臓器/細胞を明らかにして、その細胞の WNK シグナルを検討する。さらに KLHL3 ノックアウトマウスが完成しており、解析を開始している。また、我々は CRISPR によるゲノム編集技術を習得しており(Hypertension 2015)、CRISPR による KLHL2 ノックアウトマウス作成を行っている。生体での KLHL2 の機能解析とともに、多くの臓器/細胞では KLHL2/3 が協調して WNK 分解を制御していると考えられ、KLHL2/3 のダブルノックアウトマウスには多くの表現系が期待される。さらに我々は PHAII 変異によって起きる exon9 の skipping を Cre 発現によって誘導できる CuI in3 ノックインマウスの作成に成功しており、PHAII の機序と特徴を明らかにしていきたい。

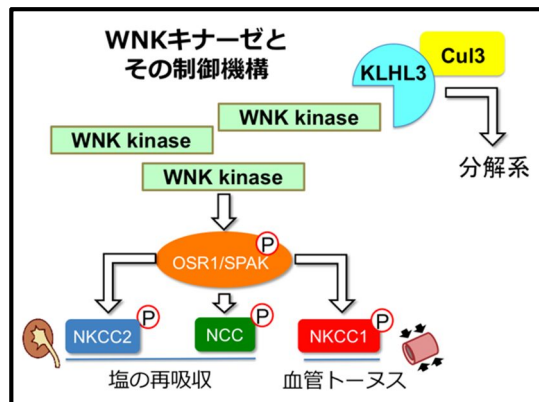
(4)KLHL/CuI in3/WNK シグナルの各臓器での働きの解明：近年、血圧調節以外の病態における WNK シグナルの重要性が明らかになりつつある。WNK キナーゼは腎臓や血管平滑筋以外にも脂肪細胞、脳/神経、免疫細胞、消化管上皮、心筋などの各臓器に発現している。我々は、この系の構成分子の遺伝子改変マウスを多数保有または作成中であり、各臓器でこの系を制御できる。特に、以下の臓器や病態において WNK シグナルとの関連性が浮かび上がっており、世界に先駆けて明らかにしていきたい。最近我々は WNK4 ノックアウトマウスが肥満抵抗性であり、インスリン抵抗性を起こしにくいことを発見した。また 3T3-L1 細胞において WNK4 が脂肪細胞分化に伴い強力に誘導され、WNK4 抑制は培養細胞における脂肪滴蓄積を障害することを見出した。塩分で制御される WNK シグナルと肥満の関連はメタボリック症候群病態解明のための高インパクトな知見となり、WNK4 と糖脂質代謝との関わりを解明することを目指す。

### 4. 研究成果

(1)Akt による KLHL3 と WNK4 間の生理的な結合制御機構解明： WNK シグナルの生理的な調節因子は明らかになってきたものの、KLHL3-CuI in 複合体による WNK キナーゼ分解の生理的な制御についてはよくわかっていないため、質量分析を用いて KLHL3 のリン酸化サイトを同定し、その部位に対するリン酸化抗体を作成し検討した。結果として、KLHL3 の kelch-repeat 内の S433 がリン酸化サイトであると同定された。WNK4 によって免疫沈降された KLHL3 は S433 リン酸化が減少しており、S433 リン酸化によって KLHL3 は WNK4 との結合が減少することがわかった。In vitro kinase assay では PKA と Akt による KLHL3 S433 のリン酸化が確認され、さらに培養細胞では forskolin と insulin の刺激で KLHL3 S433 リン酸化が各々亢進した。これにより、我々は PKA と Akt による KLHL3 リン酸化が WNK4 との結合を制御することを明らかにした。これはインスリンやバゾプレッシンによる WNK シグナル制御の生理的メカニズムの1つであると考えられた。

(2)KLHL3 変異による PHAII モデルマウスの作成と解析：我々は KLHL3 ノックアウトマウスの作成に成功し、KLHL3 の組織分布と機能を検討した。我々は KLHL3 の exon3 に LacZ を組み込み、内因性の KLHL3 プロモーター下に -gal を発現するノックアウトマウスを作成した。Western blotting では腎臓、脳、眼、精巣、心臓、肺、膵臓、胃に -gal 発現を確認し、特に脳と腎臓に発現が強く確認され、LacZ 染色では、脳の海馬、腎臓の遠位尿細管に強く染色が認められた。しかし、腎臓を除く臓器において、WNK キナーゼの発現増加は認めず、他の代償機構や我々の検討していない臓器へのさらなる検討が必要と考えられた。また、腎臓において、KLHL3 ノックアウトマウスは WNK1 と WNK4 の分解不良による発現増加を認め、その下流の SPAK と NCC のリン酸

化が増加することで PHA 様の症状を呈していた。しかし、しかしながら、KLHL3+/-ヘテロノックアウトマウスでは、KLHL3R528H/+ノックインマウスとは異なり WNK シグナルの亢進を認めず、KLHL3 R528H はドミナントネガティブ効果を持つことが示唆された。そのメカニズム解明のために共免疫沈降法を行い、KLHL3 は二量体を形成することを発見し、KLHL3R528H が野生型 KLHL3 と二量体を形成し、この二量体のどちらかに変異 KLHL3 が組み込まれることにより、KLHL3 による WNK 分解システムが破綻し、ドミナントネガティブ効果を示すことで PHAII を発症することを *in vitro* で明らかにした。本研究によって、KLHL3 による WNK シグナル制御機構は、量だけでなく、我々が過去に報告した、リン酸化などを介した質的な制御も重要であると考えられた。(Mol Cell Biol. 2017)



(3)CUL3 変異による PHAII モデルマウスの解析：PHAII を引き起こす CUL3 変異は、exon9 の skipping を起こし、57 アミノ酸を欠失した変異 CUL3 (CUL3 403-459) を発現する。しかしながら、この変異 CUL3 に起因する PHAII において、CUL3 と WNK を連結するアダプタータンパクである KLHL3 の病的挙動は依然として不明であった。今回我々は、CUL3 変異 PHAII 患者でみられる CUL3 ( exon9) を発現する KI マウス (CUL3WT/ exon9) を作製し解析した。この KI マウスがヒト PHAII の表現形を呈し、適切な病態モデルマウスであることを確認した後、KI マウスにおいて KLHL3 の発現量が著しく低下していることを確認した。しかしながら、KLHL2 のような KLHL3 と相同性の高い他の KLHL ファミリータンパク質の発現量に差はみられなかった。変異 CUL3 ( exon9) が KLHL3 タンパク質特異的に影響を及ぼしていると推察され、この *in vivo* の知見は CUL3 変異に起因する PHAII の病因解明に役立つものと考えられた。(Clin Exp Nephrol. 2018)

(4)KLHL2 ノックアウトマウスの作成と解析：KLHL3 と同じく WNK を蛋白分解系に導く KLHL2 のノックアウトマウスの作製と解析を行った。KLHL2 ノックアウトマウス腎臓における KLHL2 が WNK-SPAK/OSR1 カスケードに与える影響を検証した。腎臓での WNK4 蛋白の発現量をウェスタンブロットにより評価したところ、KLHL2 を発現している control マウスと比較して KLHL2 ノックアウトマウスで有意に増加していることが確認できたが、WNK4 の下流にある SPAK、OSR1、NCC のリン酸化の亢進は認めなかった。PHAII の表現型も示さず、これは KLHL2 の発現部位が腎髄質優位であり、NCC の発現部位である遠位尿細管での発現が少ないためであると考えられた (Biochem Biophys Res Commun. 2017)。

(5)脂肪細胞における WNK シグナルの機能解析を行った。マウス脂肪組織、特に成熟脂肪細胞に WNK4 が強く発現していることが新たに分かり、脂肪組織から 未分化な脂肪由来幹細胞を含む間質血管細胞を単離し、脂肪細胞への分化誘導刺激を加えると、WNK4 の発現が早期から増大することを示した。また、これが脂肪分化のモデル細胞である 3T3-L1 細胞においてもみられ、細胞分化のマスターレギュレーターである PPAR や C/EBP に先行して起こり、WNK4 のノックダウンが PPAR や C/EBP の発現を抑制し、脂肪細胞への分化と脂肪滴の蓄積を抑制することを明らかにした。これらはヒト由来の間葉系胚細胞を用いた実験でも同様の結果を示し、ヒトにおいても同様の制御機構が存在すると考えられた。また、WNK4 による脂肪細胞分化を制御するメカニズムとして、WNK4 が細胞周期を脂肪細胞分化の早期から制御し、その結果として PPAR の転写を阻害している可能性を示した。さらに、WNK4 ノックアウトマウスを解析した結果、WNK4 ノックアウトマウスは高脂肪食で誘発される肥満になりにくく、脂肪細胞サイズは野生型マウスに比して小さく、インスリン感受性も良いことを示した。これは、これまで主に腎臓における塩分感受性高血圧の制御因子として知られていた WNK4 が、脂肪組織では脂肪細胞の分化を制御し、高脂肪食による肥満の病態にも寄与することを示すという、高血圧と肥満の病態を繋ぐ全く新しい知見で、メタボリックシンドロームの病態解明に役立つと考えられた。また本研究の結果から、メタボリックシンドロームなど高血圧と肥満を合併した病態の新規治療戦略として、WNK4 の抑制が有用であると期待された。(EBioMedicine. 2017)

(6)メトホルミンによる NCC 脱リン酸化作用の発見。近年、古くより使用されてきた糖尿病治療薬であるメトホルミンが、血糖降下作用効果の他にも抗老化や抗癌作用など様々な効果があることが明らかにされ、その糖尿病以外の疾患への有用性が新たに注目されている。興味深いことに最近のメタアナリシス研究でメトホルミンが糖尿病でない患者さんに対して血圧を低下させる効果があると報告されたが、腎臓におけるメトホルミンの血圧調節作用やその機序は不明であった。我々はメトホルミンの投与によって、マウスの尿中への塩分排泄量が増加することを明らかにした。腎臓の塩分輸送体について検討を行うと、腎臓の NCC のリン酸化が低下しており、NCC の活性化が低下するために尿中への塩分排泄が増加していた。さらに、メトホルミンによる NCC のリン酸化の低下が、単離した腎臓においても認められ、メトホルミンが NCC のリン酸化を直接的に抑制することが証明された。今後、過食によって増加する、高血圧を有したメタボリック症候群症例などへのメトホルミンのさらなる活用が期待される。(Metabolism. 2018)

(7)WNK シグナルの研究の中で、CKD における塩分感受性亢進のメカニズムを検討する中で、CKD 研究も進めることができた。CKD における腎臓内のエネルギー状態や尿毒素などの代謝物の蓄

積を評価するため、CKD モデルマウスの腎臓組織のメタボローム解析を行い、代謝物の種類や濃度を網羅的に分析した。ATPは生物のエネルギー源となる物質であり、エネルギーを放出してAMPになります。CKDの腎臓ではこのAMP/ATPの比率が上昇し、エネルギー状態が通常の腎臓と比較して悪化していることが確認された。次に我々は、エネルギーセンサーとして重要な役割を果たしているAMP活性化プロテインキナーゼ(AMPK)に着目した。AMPKは細胞内のエネルギーのセンサーとして重要な役割を担っており、細胞内のエネルギーが低下、つまりAMP/ATP比が上昇していればAMPKは活性化してATP産生などを促し、エネルギー状態を改善する。しかし、CKDの腎臓ではエネルギー状態が悪化しているにも関わらず、CKDによる尿毒素の蓄積や体内環境の酸性化などによってAMPKが活性化されない「エネルギー不全感知障害」をきたしていることが明らかになった。本研究により、CKD腎臓でのエネルギー代謝障害によって、腎機能障害が進行するメカニズムが明らかになり、低タンパク食もAMP非依存性にAMPKを活性化することから、食事制限が不要なCKD治療法につながる可能性が示唆された。(Kidney Int. 2019)

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計14件)

- (1)Kikuchi H, Sasaki E, Nomura N, Mori T, Minamishima YA, Yoshizaki Y, Takahashi N, Furusho T, Arai Y, Mandai S, Yamashita T, Ando F, Maejima Y, Isobe K, Okado T, Rai T, Uchida S, Sohara E. Failure to sense energy depletion may be a novel therapeutic target in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2019 Jan;95(1):123-137. doi: 10.1016/j.kint.2018.08.030. 査読あり
- (2)Yoshida S, Araki Y, Mori T, Sasaki E, Kasagi Y, Isobe K, Susa K, Inoue Y, Bomont P, Okado T, Rai T, Uchida S, Sohara E. Decreased KLHL3 expression is involved in the pathogenesis of pseudohypoaldosteronism type II caused by cullin 3 mutation in vivo. *Clin Exp Nephrol.* 2018 Dec;22(6):1251-1257. doi: 10.1007/s10157-018-1593-z. 査読あり
- (3)Hashimoto H, Nomura N, Shoda W, Isobe K, Kikuchi H, Yamamoto K, Fujimaru T, Ando F, Mori T, Okado T, Rai T, Uchida S, Sohara E. Metformin increases urinary sodium excretion by reducing phosphorylation of the sodium-chloride cotransporter. *Metabolism.* 2018 Aug;85:23-31. doi: 10.1016/j.metabol.2018.02.009. 査読あり
- (4)Mandai S, Mori T, Nomura N, Furusho T, Arai Y, Kikuchi H, Sasaki E, Sohara E, Rai T, Uchida S. WNK1 regulates skeletal muscle cell hypertrophy by modulating the nuclear localization and transcriptional activity of FOXO4. *Sci Rep.* 2018 Jun 14;8(1):9101. doi: 10.1038/s41598-018-27414-0. 査読あり
- (5)Ando F, Mori S, Yui N, Morimoto T, Nomura N, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Kondo Y, Kagechika H, Uchida S. AKAPs-PKA disruptors increase AQP2 activity independently of vasopressin in a model of nephrogenic diabetes insipidus. *Nat Commun.* 2018 Apr 12;9(1):1411. doi: 10.1038/s41467-018-03771-2. 査読あり
- (6)Susa K, Sohara E, Takahashi D, Okado T, Rai T, Uchida S. WNK4 is indispensable for the pathogenesis of pseudohypoaldosteronism type II caused by mutant KLHL3. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017 Sep 23;491(3):727-732. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.07.121. 査読あり
- (7)Kasagi Y, Takahashi D, Aida T, Nishida H, Nomura N, Zeniya M, Mori T, Sasaki E, Ando F, Rai T, Uchida S, Sohara E. Impaired degradation of medullary WNK4 in the kidneys of KLHL2 knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017 May 27;487(2):368-374. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.04.068. 査読あり
- (8)Arai Y, Takahashi D, Asano K, Tanaka M, Oda M, Ko SBH, Ko MSH, Mandai S, Nomura N, Rai T, Uchida S, Sohara E. Salt suppresses IFN inducible chemokines through the IFN -JAK1-STAT1 signaling pathway in proximal tubular cells. *Sci Rep.* 2017 Apr 20;7:46580. doi: 10.1038/srep46580. 査読あり
- (9)Mandai S, Furukawa S, Kodaka M, Hata Y, Mori T, Nomura N, Ando F, Mori Y, Takahashi D, Yoshizaki Y, Kasagi Y, Arai Y, Sasaki E, Yoshida S, Furuichi Y, Fujii NL, Sohara E, Rai T, Uchida S. Loop diuretics affect skeletal myoblast differentiation and exercise-induced muscle hypertrophy. *Sci Rep.* 2017 Apr 18;7:46369. doi: 10.1038/srep46369. 査読あり
- (10)Takahashi D, Mori T, Sohara E, Tanaka M, Chiga M, Inoue Y, Nomura N, Zeniya M, Ochi H, Takeda S, Suganami T, Rai T, Uchida S. WNK4 is an Adipogenic Factor and Its Deletion Reduces Diet-Induced Obesity in Mice. *EBioMedicine.* 2017 Apr;18:118-127. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.03.011. 査読あり
- (11)Sasaki E, Susa K, Mori T, Isobe K, Araki Y, Inoue Y, Yoshizaki Y, Ando F, Mori Y, Mandai S, Zeniya M, Takahashi D, Nomura N, Rai T, Uchida S, Sohara E. KLHL3 Knockout Mice Reveal the Physiological Role of KLHL3 and the Pathophysiology of Pseudohypoaldosteronism Type II Caused by Mutant KLHL3. *Mol Cell Biol.* 2017 Mar 17;37(7). pii: e00508-16. doi: 10.1128/MCB.00508-16. 査読あり

(12)Shoda W, Nomura N, Ando F, Mori Y, Mori T, Sohara E, Rai T, Uchida S. Calcineurin inhibitors block sodium-chloride cotransporter dephosphorylation in response to high potassium intake. *Kidney Int.* 2017 Feb;91(2):402-411. doi: 10.1016/j.kint.2016.09.001. 査読あり

(13)Ando F, Sohara E, Morimoto T, Yui N, Nomura N, Kikuchi E, Takahashi D, Mori T, Vandewalle A, Rai T, Sasaki S, Kondo Y, Uchida S. Wnt5a induces renal AQP2 expression by activating calcineurin signalling pathway. *Nat Commun.* 2016 Nov 28;7:13636. doi: 10.1038/ncomms13636. 査読あり

(14)Mori T, Hosomichi K, Chiga M, Mandai S, Nakaoka H, Sohara E, Okado T, Rai T, Sasaki S, Inoue I, Uchida S. Comprehensive genetic testing approach for major inherited kidney diseases, using next-generation sequencing with a custom panel. *Clin Exp Nephrol.* 2017 Feb;21(1):63-75. doi: 10.1007/s10157-016-1252-1. 査読あり

〔学会発表〕(計 66 件)

(1)Sohara Eisei, Fujimaru Takuya, Mori Takayasu, Uchida Shinichi. Whole exome data in rare disease gene discovery. International of Society of Nephrology, World Congress of Nephrology 2019, 2019 4.15. Melbourne, Australia

(2)Sohara Eisei, Hiroaki Kikuchi, Uchida Shinichi, Failure to sense energy depletion in chronic kidney disease, Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies, The 9th FAOPS CONGRESS. 2019, 2019.3.30. Kobe, Japan

(3)蘇原 映誠. 多発性嚢胞腎診療の新しい展望～ゲノムから薬剤治療まで～. 第 4 8 回日本腎臓学会東部学術大会 2018.10.20 東京

(4)蘇原 映誠, 藤丸 拓也, 森 崇寧, 内田 信一. 嚢胞性腎疾患の網羅的遺伝子解析システムの開発と応用. 第 61 回日本腎臓学会学術総会 2018.06.10 新潟

(5) 蘇原 映誠. 遺伝性高血圧疾患から Precision Medicine を考える. 第 40 回日本高血圧学会総会 2017.10.22 松山

(6) 蘇原 映誠. WNK シグナルを介した新しい塩分感受性調節機構の解明. 第 40 回日本高血圧学会総会 2017.10.21 松山

(7) Sohara Eisei. Pseudohypoaldosteronism. 10th International Meeting of Pediatric Endocrinology 2017.09.14 Washington, USA

(8) Sohara Eisei. WNK kinase signalling to cation chloride transporters. Symposium, INTERNATIONAL UNION OF PHYSIOLOGICAL SCIENCE, 38th World Congress 2017.08.05 Rio de Janeiro, Brazil

(9)蘇原 映誠, 森崇寧, 内田信一. 次世代シーケンサーを用いた遺伝性腎疾患の解析. 第 60 回日本腎臓学会学術総会 2017.05.26 横浜

(10)蘇原 映誠. WNK-SPAK シグナル系阻害薬の開発とその可能性. 臨床高血圧フォーラム 2017.05.13 岡山

(11)蘇原 映誠. 腎性尿崩症治療を目指した AQP2 細胞内局在制御機構の解明. 第 43 回日本神経内分泌学会学術集会, シンポジウム 2016.10.15 浜松

(12)蘇原 映誠, 森 崇寧, 内田 信一. 次世代シーケンサーを用いた遺伝性腎疾患の解析. 第 4 6 回日本腎臓学会東部学術大会, シンポジウム 2016.10.07 東京

(13)蘇原 映誠. 次世代シーケンサー時代の高血圧研究の実際. 第 3 9 回日本高血圧学会総会 2016.10.01 仙台

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ: <https://tmd-kid.jp>

## 6. 研究組織

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。