

令和元年5月29日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10060

研究課題名(和文) 網羅的アプローチによる膜性増殖性糸球体腎炎病態形成機序の解析

研究課題名(英文) Analysis on molecular mechanism of mesangial proliferative glomerulonephritis

研究代表者

鶴見 晴子 (Tsurumi, Haruko)

東京大学・医学部附属病院・登録研究員

研究者番号：20632269

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)：小児の糸球体腎炎においてメサンギウム細胞の変化は高率に認められがその機序は不明な点が多い。本研究では様々な刺激によるメサンギウム細胞の変化を解析し腎炎の病態形成メカニズム解明を目指した。スクリーニングによりヒトメサンギウム細胞に強発現する分子Xを同定した。Xは尿細管や間質においてはほとんどその発現を認めず糸球体内で発現し、糸球体内ではメサンギウム細胞で特異的に発現していた。一部の糸球体腎炎患者でその発現が変化が確認された。培養メサンギウム細胞ではXは細胞内小胞に存在し細胞外基質の取り込みへの関与が示唆された。糸球体腎炎におけるメサンギウム基質の増加のメカニズムの可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児の腎臓病の代表である糸球体腎炎がどのようにして発症し進展するのかについては不明な点が多い。この研究ではメサンギウム細胞が病的な刺激に応じてどのように変化するのかを明らかにすることで腎炎の発症メカニズムの解明を目指した。メサンギウム細胞に存在する分子を新たに同定し、その分子の発現が一部の腎炎患者で変化すること、またその分子の機能がメサンギウム部分の変化に関連する可能性が示唆された。糸球体腎炎の発症に関連する変化を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In kidney, glomerular injury results in proliferation and aberrant migration of mesangial cells, which is the pathological characteristic of mesangial proliferative glomerulonephritis. To date, molecular changes that occur in mesangial cells during glomerular injury and their association with the pathogenesis of glomerulonephritis remain largely unclear. We identified expression of a novel molecule(X) in mesangial cells in vivo and in vitro. In kidney tissues from some patients with mesangioproliferative glomerulonephritis, expression of X in glomerular mesangium was altered. In cultured mesangial cells, X was localized in intracellular vesicles, and involved in endocytosis of extracellular matrix. These result suggested the involvement of novel molecules in pathogenesis of glomerulonephritis.

研究分野：小児腎臓病

キーワード：糸球体腎炎 メサンギウム細胞

1. 研究開始当初の背景

小児の各種系球体腎炎においてメサンギウム細胞の増殖やメサンギウム基質の増加は高率に認められ、臨床所見とは独立して疾患予後と関与することが示唆されている。系球体腎炎の一種である膜性増殖性腎炎(Membranoproliferative glomerulonephritis: MPGN)は、メサンギウム細胞増殖と基底膜の二重化病変を主体とする難治性の腎疾患で、系球体に免疫複合体または補体のみ沈着し、メサンギウム角を起点としてメサンギウム突起が内皮下へ陥入する像(interposition)を呈することが病理学的な特徴である。しかしメサンギウムで特徴的に発現する分子について報告が少なく、メサンギウム細胞の形態学的な変化、その増殖、またメサンギウム基質増加に関する分子的機序の詳細については依然として不明な点が多い。この細胞のどのような変化が腎炎の発症や進展に関与しているかを明らかにすることは臨床的に意義深いと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、様々な刺激によるメサンギウム細胞の遺伝子発現・蛋白質発現量の変動を解析し、同定された因子の機能解析により系球体腎炎の病態形成メカニズムの詳細を解明し、治療ターゲットの可能性を見極めることを目的とする。

3. 研究の方法

補体や様々な増殖因子等によりメサンギウム細胞を刺激し、細胞の形態や基底膜との接着に変化を及ぼす条件を決定した。またその過程で免疫染色やWestern blotにより発現量や発現パターンが変化する分子の同定をおこなった。さらに同定された分子の発現を腎組織での免疫染色を用いて行い、培養メサンギウム細胞を用いてその機能解析を行った。腎組織の評価やメサンギウム細胞実験については申請者らの過去の研究に則って行った(Tsurumi H et al. Kidney Int. 2014, 86(3):548-57, Tsurumi H et al. Lab Invest. 2016, 96(1):49-59)。同定分子 X の結合分子の探索については銀染色で得られたバンドについて Udagawa T et al. Sci Rep 2018 の方法を用いて質量解析を行った。

4. 研究成果

当初培養メサンギウム細胞に補体を作用させ刺激前後のサンプルを比較したところ、細胞骨格や基底膜との接着構造への変化は認められなかった。そのため様々な刺激を用いて検討し、メサンギウム細胞の細胞形態の変化を起こす条件を決定した。

この検討の過程でヒトメサンギウム細胞に強発現する分子 X を同定した。X の発現パターンをヒト腎組織で検討したところ尿細管や間質においてはほとんどその発現を認めず系球体内で特異的に発現が認められた。系球体内では系球体上皮細胞や内皮細胞には発現が乏しく、メサンギウム細胞で特異的に高発現していた。ラットやマウスでは蛋白レベルの発現を認めなかったため系球体腎炎モデルでの評価は困難であったが、メサンギウム増殖性系球体腎炎患者の腎生検標本を用いて検討したところ、一部の症例でコントロール検体に比べその発現が変化していることを見出した。X について培養細胞を用いた解析を行い、メサンギウム細胞では X は細胞内 vesicle に存在すること、また X は細胞外基質の取り込みに関係することが示唆された。またプロテオーム解析により X に結合する候補蛋白を複数同定した。メサンギウム細胞の増殖時にこの分子の発現が変化し、また細胞外基質の取り込みに関与することから、X が系球体腎炎発症の過程でメサンギウム基質の増加に関与する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計6件)

Udagawa T, Harita Y, Miura K, Mitsui J, Ode KL, Morishita S, Urae S, Kanda S, Kajiho Y, Tsurumi H, Ueda HR, Tsuji S, Saito A, Oka A. Amnionless-mediated glycosylation is crucial for cell surface targeting of cubilin in renal and intestinal cells. Scientific reports 8(1) 2351, 2018

Harita Y. Application of next-generation sequencing technology to diagnosis and treatment of focal segmental glomerulosclerosis. Clinical and experimental nephrology 22: 491-500, 2018

張田豊 : 腎疾患に対する遺伝子診断 小児科 59: 1379-1385, 2018

張田豊 : 小児腎疾患における遺伝子診断の実際 日本小児腎不全学会雑誌 38: 28-33, 2018

張田豊 : 遺伝子から見た嚢胞性腎疾患 じん 40: 4-8, 2018

Udagawa T, Jo T, Yanagihara T, Shimizu A, Mitsui J, Tsuji S, Morishita S, Onai R, Miura K, Kanda S, Kajiho Y, Tsurumi H, Oka A, Hattori M, Harita Y: Altered expression

of Crb2 in podocytes expands a variation of CRB2 mutations in steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 32(5):801-809, 2017

〔学会発表〕(計 5 件)

張田豊：ゲノム情報を臨床へ～遺伝性腎疾患へのアプローチ～ 変異の病原性判断と家族への説明(シンポジウム) 第 52 回日本小児腎臓病学会学術集会、東京、2017 年 6 月 1 日

張田豊：遺伝性腎疾患診療の現状と将来. 第 4 回 KIDNEY RELATED DISEASE SYMPOSIUM in KYOTO、京都、2018 年 11 月 22 日

張田豊：蛋白尿・ネフローゼの発症機序. 北海道小児腎臓病研究会、札幌、2018 年 9 月 22 日

Harita Y: Pathogenic mechanism of childhood idiopathic nephrotic syndrome. ISN FRONTIERS MEETINGS. KIDNEY DISEASE & CARDIOVASCULAR DISEASE. Tokyo, Feb. 24, 2018

張田豊：腎疾患に対する遺伝子診断の実際 (講演) 第 15 回日本腎病理協会研究会 東京 2017 年 1 月 7 日

〔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 なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：張田 豊

ローマ字氏名：Harita Yutaka

所属研究機関名：東京大学

部局名：医学部附属病院

職名：准教授

研究者番号(8桁): 10451866

研究分担者氏名：神田 祥一郎

ローマ字氏名：Kanda Shoichiro

所属研究機関名：東京大学

部局名：医学部附属病院

職名：助教

研究者番号(8桁): 60632651

研究分担者氏名: 服部 元史

ローマ字氏名: Hattori Motoshi

所属研究機関名: 東京女子医科大学

部局名: 医学部附属病院

職名: 教授

研究者番号(8桁): 50192274

(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。