

令和 3 年 6 月 19 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08230

研究課題名(和文)大Maf群転写因子によるネフロン分化の解明と腎臓再生基盤の確立

研究課題名(英文)The role of large Mafs in kidney development

研究代表者

森戸 直記(Morito, Naoki)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：70463825

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：大Maf群転写因子は、ネフロンでは、MafB、c-Mafが発現している。MafBは成体では糸球体腎臓の発生において、上皮化したネフロン前駆細胞は、糸球体上皮細胞、近位尿細管、遠位尿細管のそれぞれに分化する。MafBは上皮細胞に強く発現している。また、c-Mafは近位尿細管に発現していることが知られている。MafBノックアウトマウスの解析からMafBは糸球体上皮細胞と近位尿細管細胞の分化に必須であるが、遠位尿細管細胞ではそうではないことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大Maf群転写因子のネフロン発生と分化における機能については、糸球体上皮細胞についての報告はあるものの近位尿細管、遠位尿細管発生に関するものはほとんどない。MafBは糸球体上皮細胞と近位尿細管細胞の分化に必須であるが、遠位尿細管細胞ではそうではないこと、c-Mafは近位尿細管の発生には必須ではないことを示した。また、ネフロン前駆細胞の大Maf群転写因子の発現パターンを制御することで、将来的な再生医療に生かすことができる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In kidney development, Nephron progenitor cells give rise to multiple cell types of the nephron, including podocytes, proximal and distal tubules. We previously reported MafB is essential for podocyte development. Since MafB knockout (KO) mice died out at perinatal period, we analyzed renal development at Embryo 18.5 days (E18.5). We found podocyte foot process effacement was observed in KO kidneys. Proximal tubule cells (LTL; Lotus tetragonolobus lectin-positive) was significantly decreased in KO kidneys compared with WT (wild-type) ones. Meanwhile, we could not find any differences in distal tubule cells (Slc12a3-positive) between KO and WT kidneys. These observations were resembled to Notch2-deficient kidneys. RT-PCR analysis revealed Notch2 expression was decreased in MafB knockout kidneys compared with WT ones. MafB may play an important role in podocytes and proximal tubules development.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：転写因子 大Maf

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

腎臓の発生において、上皮化したネフロン前駆細胞(Six2 陽性細胞)は、糸球体上皮細胞、近位尿細管、遠位尿細管のそれぞれに分化する。大 Maf 群転写因子は、ほ乳類において MafA, MafB, c-Maf, Nr1 の4種類が知られ、ネフロンでは、MafB, c-Maf が発現している。MafB に GFP ノックインしたマウスの解析から MafB は成体では糸球体上皮細胞に強く発現している。また、c-Maf に LacZ をノックインしたマウスの解析から、c-Maf は近位尿細管に発現していることが知られている。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、大 Maf 群転写因子のネフロン発生と分化における機能を明らかにすることである。大 Maf 群転写因子のネフロン発生における役割を明確にすることで、将来の腎臓再生の基盤づくりをする。

### 3. 研究の方法

#### (1) MafB ノックアウトマウスにおけるネフロン発生の解析

##### 糸球体上皮細胞、近位尿細管、遠位尿細管発生障害の証明

MafB<sup>+/-</sup>マウスを掛け合わせ、MafB<sup>-/-</sup>マウスを得る。MafB<sup>-/-</sup>マウスは、生後呼吸不全ですぐ死亡してしまうため、胎生18.5日胚(E18.5)以前での解析を行う。WT1陽性を糸球体上皮細胞、LTL (Lotus tetragonolobus lectin)陽性を近位尿細管、Slc12a3 (Solute carrier family 12, member 3) 陽性を遠位尿細管として染め分け、MafB<sup>-/-</sup>マウスとコントロール(MafB<sup>+/-</sup>)マウスで、糸球体上皮細胞、近位尿細管、遠位尿細管の発生に組織学的に差があることを証明する。あわせてMafBノックアウト(KO)マウスのネフロン発生における遺伝子発現を検討する。MafB KOマウスは生後すぐに死亡するため、胎生18.5日目でRNA seqを行い、コントロール(ヘテロ)マウスとの比較を行なった。

##### MafBのネフロン前駆細胞での発現時期の同定

免疫染色でSix2陽性をネフロン前駆細胞として染め分ける。E12.5, E14.5 E16.5 E18.5のそれぞれの時期でMafB<sup>+/-</sup>マウス(GFPノックインマウスのためMafBの発現がGFPとしてモニターできる)におけるMafB発現を同定する。

MafB は、Notch2 を介してネフロン分化に関わっている可能性があること。

MafB<sup>-/-</sup>マウスの表現型は、Notch2<sup>-/-</sup>の表現型に似ており、糸球体上皮細胞と近位尿細管の発生障害が認められる。研究代表者らは糖尿病性腎症モデルマウスにおいてNotch2はMafBの制御を受けていることを報告した。これらより、MafBは、Notch2を介して糸球体上皮細胞、近位尿細管分化を制御している可能性がある。

## (2) c-Maf ノックアウトマウスにおけるネフロン発生の解析

### 糸球体上皮細胞、近位尿細管、遠位尿細管発生障害の証明

c-Maf<sup>+/-</sup>マウスを掛け合わせ、c-Maf<sup>-/-</sup>マウスを得る。c-Maf<sup>-/-</sup>マウスは、生後すぐ死亡してしまうため、胎生18.5日胚での解析を行う。MafB ノックアウトマウスと同様に免疫染色と胎生18.5日目でRNA seqを行い、コントロール(ヘテロ)マウスとの比較を行う。

### c-Mafのネフロン前駆細胞での発現時期の同定

免疫染色でE12.5, E14.5 E16.5 E18.5のそれぞれの時期でc-Maf<sup>+/-</sup>マウス(LacZノックインマウスのためc-Mafの発現が Galとしてモニターできる)におけるc-Maf発現を同定する。

## 4. 研究成果

胎生18.5日目のMafB<sup>KO</sup>マウスにおいて、糸球体上皮細胞と近位尿細胞数の減少と成熟の障害がみられた。一方、遠位尿細管ではその数と成熟に差はみられなかった。さらに、糸球体上皮細胞関連遺伝子(Nphs1, Nphs2, Magi2など)発現が有意に減少していた。また、近位尿細管関連遺伝子のグルコーストランスポーター、アミノ酸トランスポーターの発現も有意に減少していた。一方、遠位尿細管関連の遺伝子発現はMafB<sup>KO</sup>マウスはコントロールマウスと差は見られなかった。c-Maf<sup>KO</sup>マウスはC57/BL6の遺伝背景では、胎生致死となってしまうことがわかったため、元の129svのマウスに3回退交配させ、胎生18.5日目のc-Maf<sup>KO</sup>マウスを得ることができた。そのため、c-MafのRNA seqは現在結果待ちの状況である。また、腎のRT-PCRでネフロン分化に必要なNotch2の発現の減少がみられた。培養糸球体上皮細胞にMafBを過剰発現するとNotch2の発現が上昇した。MafBは糸球体上皮細胞と近位尿細管細胞の分化に必須であるが、遠位尿細管細胞ではそうではないことが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sayaka Fuseya, Riku Suzuki, Risa Okada, Kozue Hagiwara, Takashi Sato, Hisashi Narimatsu, Hideki Yokoi, Masato Kasahara, Toshiaki Usui, Naoki Morito, Kunihiro Yamagata, Takashi Kudo, Satoru Takahashi	4. 巻 523
2. 論文標題 Mice Lacking Core 1-derived O-glycan in Podocytes Develop Transient Proteinuria, Resulting in Focal Segmental Glomerulosclerosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 1007-1013
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.12.033.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Usui Toshiaki, Morito Naoki, Shawki Hossam H., et al.	4. 巻 98
2. 論文標題 Transcription factor MafB in podocytes protects against the development of focal segmental glomerulosclerosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 391 ~ 403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.kint.2020.02.038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe Megumi, Kaneko Shuzo, Usui Joichi, Takahashi Kazuhiro, Kawanishi Kunio, Takahashi Kobayashi Mayumi, Shimizu Tatsuya, Ishii Ryota, Tawara Takashi, Tsunoda Ryoya, Nagai Kei, Kawamura Tetsuya, Fujita Akiko, Kai Hirayasu, Morito Naoki, Saito Chie, Oda Tatsuya, Nagata Michio, Yamagata Kunihiro	4. 巻 23
2. 論文標題 Literature review of allograft adenovirus nephritis and a case presenting as mass lesions in a transplanted kidney without symptoms of urinary tract infection or acute kidney injury	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transplant Infectious Disease	6. 最初と最後の頁 e13468
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tid.13468	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kanai Maho, Jeon Hyojung, Ojima Masami, Nishino Teppei, Usui Toshiaki, Yadav Manoj Kumar, Kulathunga Kaushalya, Morito Naoki, Takahashi Satoru, Hamada Michito	4. 巻 523
2. 論文標題 Phenotypic analysis of mice carrying human-type MAFB p.Leu239Pro mutation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 452 ~ 457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.12.033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato Yoshinori, Tsukaguchi Hiroyasu, Morita Hiroyuki, Higasa Koichiro, Tran Mai Thi Nhu, Hamada Michito, Usui Toshiaki, Morito Naoki, Horita Shoichiro, Hayashi Takao, Takagi Junko, Yamaguchi Izumi, Nguyen Huan Thanh, Harada Masayo, Inui Kiyoko, Maruta Yuichi, Inoue Yoshihiko, Koiwa Fumihiko, Sato Hiroshi, et al.	4. 巻 94
2. 論文標題 A mutation in transcription factor MAFB causes Focal Segmental Glomerulosclerosis with Duane Retraction Syndrome	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 396 ~ 407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.kint.2018.02.025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kai Hirayasu, Usui Joichi, Tawara Takashi, Takahashi-Kobayashi Mayumi, Ishii Ryota, Tsunoda Ryoya, Fujita Akiko, Nagai Kei, Kaneko Shuzo, Morito Naoki, Saito Chie, Hamada Hiromi, Yamagata Kunihiro	4. 巻 60
2. 論文標題 Anti-glomerular Basement Membrane Glomerulonephritis During the First Trimester of Pregnancy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 765 ~ 770
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.5722-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimizu Tatsuya, Saito Chie, Watanabe Megumi, Ishii Ryota, Kawamura Tetsuya, Nagai Kei, Fujita Akiko, Kaneko Shuzo, Kai Hirayasu, Morito Naoki, Usui Joichi, Yokosawa Masahiro, Kondo Yuya, Inoue Sae, Okiyama Naoko, Yamagata Kunihiro	4. 巻 60
2. 論文標題 Anti-PM/Sci Antibody-positive Systemic Sclerosis Complicated by Multiple Organ Involvement	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 1101 ~ 1107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.5665-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------