

令和 5 年 6 月 29 日現在

機関番号：35302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06420

研究課題名(和文)腎系球体ろ過スリット膜を形成するポドサイトの細胞間シグナル伝達機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of intercellular signaling mechanism between podocytes maintaining the glomerulus filtration barrier

研究代表者

西木 禎一(NISHIKI, Teiichi)

岡山理科大学・獣医学部・教授

研究者番号：70423340

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：事業計画を申請した時の見込みとは大きく異なり、COVID-19の影響と事業期間中の職責の変化により、学生支援、教育活動、管理運営の業務が著しく増大した。また、2020年度および2021年度は、複数回におよび在宅勤務を余儀なくされた。これらの理由から、計画当初に予定していた研究に対するエフォートを確保することがきわめて難しく、研究計画を実施することができなかった。その結果、研究の目的に対し期待する成果は得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究期間内に研究成果を得ることができなかったため、その学術的意義や社会的意義について言及することはできない。

研究成果の概要(英文)：Owing to the COVID-19 pandemic and the changes in job duties and responsibilities during the project period, the work load including student support, educational tasks, and administrative tasks significantly increased. Throughout 2020 and 2021, remote work became a frequent necessity. For these reasons, it was extremely difficult to secure effort for the research originally planned at the beginning of the project, and the research plan could not be carried out. Unfortunately, this resulted in the failure to obtain the expected research outcomes.

研究分野：獣医学

キーワード：開口放出 グルタミン酸 シナプス関連タンパク質

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、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ポドサイトは腎臓のろ過機能に重要な細胞である。ポドサイトの突起同士がかみ合って形成する糸球体ろ過スリットの障害は、腎臓病につながると考えられている。発生学的に中胚葉由来のポドサイトが、外胚葉由来のニューロンと多くの共通点を持ち、シナプス関連タンパク質が発現していることも明らかにされてきた。神経伝達物質であるグルタミン酸を含む小胞がポドサイトの突起に存在することから、ポドサイト自身からのグルタミン酸分泌が示唆されている。一方で、グルタミン酸の受容体がポドサイトにも発現することから、ポドサイト同士のグルタミン酸を介した情報伝達が、糸球体のろ過機能を制御している可能性が考えられている。しかし、そのメカニズムは不明であった。

2. 研究の目的

ポドサイトの細胞間のグルタミン酸を介した情報伝達が、糸球体のろ過機能を制御しているメカニズムを明らかにし、腎糸球体のろ過スリットにおけるシグナル伝達のしくみを解明する。そのために、ニューロンにおいて伝達物質放出のカルシウムイオン (Ca^{2+}) センサーとして働く細胞内タンパク質ドック 2B が、腎臓の糸球体においてもグルタミン酸の開口放出の Ca^{2+} 依存性制御に関与しているのではないかと着想するに至った。伝達物質放出の Ca^{2+} センサードック 2 が腎臓においても調節性開口放出の制御に関与することを示すことが目的である。この目的を達成するために、腎糸球体におけるドック 2B の局在、足細胞からのグルタミン酸分泌におけるドック 2B の関与、ドック 2B が制御する足細胞からのグルタミン酸分泌がスネア依存性か否かの 3 つを明らかにする。

3. 研究の方法

ドック 2B の腎糸球体における局在を組織化学的に解析する。ラットの腎臓の組織切片を抗ドック 2B IgG と反応させ、間接免疫蛍光染色を行い、腎糸球体における発現を観察する。免疫蛍光染色法で至適化した条件下で抗体を反応させ、金コロイドを用い、免疫電子顕微鏡法により観察する。これらの実験により、ドック 2B が足細胞に発現していることを示す。

既報の腎糸球体足細胞の初代培養法を確立し、初代培養足細胞からのグルタミン酸放出を測定する。RNA 干渉法により初代培養足細胞におけるドック 2B 遺伝子の発現を抑制し、グルタミン酸放出に対する影響を解析する。この実験系を用いてレスキュー実験を行い、ドック 2B が足細胞からのグルタミン酸放出に関与していることを明らかにする。その際、ドック 2B の Ca^{2+} 結合部位を形成するアミノ酸に点突然変異を導入した遺伝子を発現させてレスキューを試み、ドック 2B の Ca^{2+} 結合能がグルタミン酸放出に関与しているか検討する。

ドック 2B を介した足細胞からのグルタミン酸放出がニューロンと同様スネア複合体によって引き起こされているか、腎臓ホモジネートを使った免疫沈降実験やスネアを分解する毒素のグルタミン酸放出に対する影響を調べ検討する。

4. 研究成果

事業計画を申請した時の見込みとは大きく異なり、COVID-19 の影響と事業期間中の職責の変化により、学生支援、教育活動、管理運営の業務が著しく増大した。また、2020 年度および 2021 年度は、複数回におよび在宅勤務を余儀なくされた。これらの理由から、計画当初に予定していた研究に対するエフォートを確保することがきわめて難しく、研究計画を実施することができなかった。その結果、研究の目的に対し期待する成果は得られな

った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------