

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08620

研究課題名（和文）内皮細胞のheterogeneityに着目した糸球体毛細血管網の維持機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of mechanisms for maintaining the glomerular capillary network focusing on endothelial cell heterogeneity

研究代表者

三井 亜希子 (Mii, Akiko)

日本医科大学・医学部・教授

研究者番号：50544417

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：糸球体疾患の原因はさまざまであるが、各疾患の病態解明や特異的な治療法の開発は進んでいない。一方、進行性の糸球体疾患に共通する病態は糸球体障害の遷延と修復不全による糸球体硬化の進展であることから、糸球体毛細血管網の形態・機能の維持と障害後の適切な修復が重要である。
本研究では、可逆性腎炎モデルの検証と糸球体疾患のヒト腎組織サンプルの解析により、糸球体障害後の修復過程では糸球体微小環境の代謝プロファイルが大きく変化すること、糸球体を構成する細胞群の相互作用や浸潤する炎症細胞の質的な違いが内皮細胞障害の重症度に関連することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、可逆性腎炎モデル及びヒト腎生検サンプルを用いて、1)糸球体内皮細胞とそれを取り巻く細胞群の動きを可視化し（形態の変化）、2)糸球体内の代謝プロファイルの変化（機能の変化）の検証により、糸球体障害とその後の修復過程における糸球体微小環境の変容とその制御機構を解明することで、糸球体硬化（糸球体疾患）の進展抑制に結びつく普遍的な治療応用への可能性が期待できる。

研究成果の概要（英文）：To inhibit of progressive glomerular diseases, it is crucial to maintain the structure and function of the glomerular capillary network and ensure proper repair after damage. This study investigates the regulatory mechanisms at play in the interactions between glomerular endothelial cells and the surrounding cell groups, focusing on morphology and function, using a rat reversible nephritis model and human renal biopsy samples. We clarified that the metabolic profile of the glomerular microenvironment alters significantly during the repair process following rat Thy1 nephritis induction. Additionally, in various human glomerular diseases, we found that the interactions among glomerular cells and the qualitative differences in infiltrating inflammatory cells, such as macrophages and neutrophils, are related to the severity of endothelial cell damage.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：糸球体腎炎 内皮細胞 エネルギー代謝

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

国民病といわれる糖尿病や高血圧による糸球体障害、また IgA 腎症をはじめとする進行性の糸球体腎炎など、糸球体疾患の原因はさまざまであるが、各疾患の病態解明や特異的な治療法の開発はなかなか進んでいない。一方で、進行性の糸球体疾患に共通する病態は、「糸球体障害の遷延による糸球体硬化から、最終的に末期腎不全に至る」ことである。糸球体硬化の進展抑制には、毛細血管の内側を覆う糸球体内皮細胞の形態・機能の維持と、障害後の適切な修復が重要である。

申請者はこれまでに糸球体障害後の良好な修復過程では糸球体毛細血管網の再構築が活発に起こっていることを報告してきた。近年の研究で、血管の再生過程では、発芽した血管の先頭を誘導する tip 細胞、血管の伸長を促進する stalk 細胞など、いくつかの形質の異なる内皮細胞が存在し、血管新生が活発化している環境下では、エネルギー代謝が解糖系へシフトしていることが示唆されている。このため、糸球体疾患においても、糸球体障害時や障害後の修復過程において、糸球体微小環境のエネルギー代謝はダイナミックに変化していることが示唆されるが、このような観点での検討はこれまでにない。

2. 研究の目的

本研究は、内皮細胞の不均一性 (heterogeneity) に着目し、内皮細胞の形態の変化、代謝プロファイルを中心とした機能の変化について、実験腎炎モデルの検証と臨床の糸球体疾患の腎組織サンプルの検討により、糸球体毛細血管網の恒常性の維持と障害後の修復を誘導する因子の同定を目的とする。

3. 研究の方法

1) 実験腎炎モデルを用いた検証

ラット Thy1 腎炎モデル(可逆性腎炎モデル)を作成し、糖尿病治療薬として広く使用され、様々な臓器保護作用が示唆されているメトホルミンを投与し、腎炎の修復が促進されるかを検証する。メトホルミン投与(Thy1+MET)群、Thy1 腎炎未治療(Thy1)群、非腎炎(NC)群に分け、経時的な腎組織像の変化、尿蛋白量の推移、単離糸球体におけるエネルギー代謝に関わる遺伝子発現の変化を検討した。

2) ヒト腎組織サンプルを用いた検討

『治る腎炎』と『治りにくい腎炎』では内皮細胞障害の重症度に違いがあるのではないかと、また内皮細胞障害の重症度には糸球体内に浸潤している炎症細胞の質が異なるのではないかと、に着目し、各糸球体疾患の腎生検サンプルを用いて内皮細胞障害の組織像の定量化による解析とマクロファージや好中球の質の違いを検討した。

4. 研究成果

1) 実験腎炎モデルを用いた検証

当初、Thy1 腎炎の修復期には解糖系の亢進が腎炎の修復に重要であるとの仮定により、day7 の単離糸球体を用いて解糖系律速酵素の遺伝子発現を確認したが *HK2*, *PKM2* の mRNA は NC 群で有意な差はなく、予想に反して解糖系中間経路の律速酵素である *PFKFB3*, *PGK1* の発現は Thy1 群で有意に低下していた。さらに尿メタボローム解析の結果から、腎炎惹起により解糖系の迂回経路であるペントースリン酸経路(PPP)の活性化が示唆された。実際、Thy1 群では PPP の律速酵素で

ある *G6PD* の mRNA が腎炎惹起 day7 で有意に増加しており、炎症による ROS 産生の抑制に寄与している可能性が示唆される。現在、PPP 律速酵素の蛋白発現や NADP/NADPH assayなどで PPP 活性の詳細を検証中である。

また、Thy1+MET 群では、Thy1 群に比べ糸球体毛細血管網は保持され、蛋白尿も減少した。尿メタボローム解析の結果から、メトホルミンの投与により抗酸化作用を有する代謝物の増加が認められ、腎炎の軽減に寄与していることが示唆された。

2) ヒト腎組織サンプルを用いた検討

管内増殖性病変と内皮細胞障害：様々な腎炎で観察される管内増殖性病変は、疾患によって病変の重症度が異なっている。同じ表現型(病変)を呈するにも関わらず臨床の予後が異なるのは、内皮細胞障害の重症度と浸潤マクロファージの質的な違いが関連することを報告した (*Sci Rep.* 2021)。

腎炎における好中球の質的相違：ANCA 関連血管炎 (AAV) を含めた各種腎炎の腎組織を検討し、好中球細胞外トラップ形成に關与するシトルリン化ヒストン H3 陽性好中球が AAV の急性活動性病変に特異的かつ高頻度に観察され、バイオマーカーとしての可能性を報告した (*Histopathology.* 2021) 。次に ANCA 関連血管炎におけるシトルリン化ヒストン陽性好中球の存在と疾患活動性との関連について検証し、2023 年の米国腎臓学会で報告した。

ポドサイトパチーにおける内皮細胞障害：巣状糸球体硬化症 (FSGS) 症例で、硬化性病変の有無に関わらず内皮細胞障害が存在すること、また FSGS の各バリエーションにより障害の重症度が異なることを報告した (*Kidney Int Rep.* 2022) 。

IgA 腎症の障害後修復に関する検討：IgA 腎症で観察される periglomerular microvessels が糸球体障害後の良好な修復像であることを報告しました (*Histopathology.* 2023) 。

以上の結果から、糸球体障害後の修復における代謝プロファイルの変化、糸球体を構成する細胞群の相互作用、浸潤炎症細胞と内皮細胞障害の重症度の関連の一端が明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14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 1件）

1. 著者名 Morita Megumi, Mii Akiko, Yasuda Fumihiko, Arakawa Yusuke, Kashiwagi Tetsuya, Shimizu Akira	4. 巻 7
2. 論文標題 Diverse Alterations of Glomerular Capillary Networks in Focal Segmental Glomerular Sclerosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Kidney International Reports	6. 最初と最後の頁 1229 ~ 1240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ekir.2022.03.007	査読の有無 無
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 Tagawa Masako, Terasaki Mika, Mii Akiko, Toda Etsuko, Kajimoto Yusuke, Kunugi Shinobu, Terasaki Yasuhiro, Shimizu Akira	4. 巻 -
2. 論文標題 The reduced number of nephrons with shortening renal tubules in mouse postnatal adverse environment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pediatric Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41390-022-02332-0	査読の有無 無
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 Tani Takashi, Sugino Kenta, Hashimoto Kazumasa, Mii Akiko, Kashiwagi Tetsuya, Shimizu Akira, Sakai Yukinao, Iwabu Masato	4. 巻 7
2. 論文標題 Concomitant Anti-GBM Glomerulonephritis and Acute Interstitial Nephritis Following Programmed Death Receptor-1 Blockade With Nivolumab	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Kidney International Reports	6. 最初と最後の頁 2317 ~ 2318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ekir.2022.08.020	査読の有無 無
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 Arai Momoko, Mii Akiko, Hiramata Akio, Kaneko Tomohiro, Kashiwagi Tetsuya, Shimizu Akira, Sakai Yukinao	4. 巻 12
2. 論文標題 A possible role of classical complement pathway activation in the pathogenesis of immunoglobulin G nephropathy: a case report	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 CEN Case Reports	6. 最初と最後の頁 14 ~ 22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13730-022-00710-5	査読の有無 無
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 Kamijo Natsumi, Mii Akiko, Aratani Sae, Kashiwagi Tetsuya, Oda Takashi, Shimizu Akira, Sakai Yukinao	4. 巻 61
2. 論文標題 Anti-neutrophil Cytoplasmic Antibody-associated Vasculitis Superimposed on Post-streptococcal Acute Glomerulonephritis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 2917 ~ 2923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.8690-21	査読の有無 無
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 Mii Akiko, Terasaki Mika, Kunugi Shinobu, Seki Miyako, Kashiwagi Tetsuya, Sakai Yukinao, Shimizu Akira	4. 巻 -
2. 論文標題 A case of proliferative glomerulonephritis with monoclonal IgG3 deposits accompanied by glomerular capillary microaneurysms	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 CEN Case Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13730-021-00676-w	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 Lan Ping, Kang Dedong, Mii Akiko, Endo Yoko, Tagawa Masako, Yu Xiaoyang, Lyu Jia, Xie Liyi, Shimizu Akira, Terasaki Mika	4. 巻 26
2. 論文標題 Evaluation of ultrastructural alterations of glomerular basement membrane and podocytes in glomeruli by low-vacuum scanning electron microscopy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Nephrology	6. 最初と最後の頁 216 ~ 225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10157-021-02147-z	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 Mii Akiko, Tagawa Masako, Endo Yoko, Shimizu Akira, Terasaki Mika	4. 巻 25
2. 論文標題 Hyaline arteriosclerosis associated paratubular basement membrane insudative lesions in distal renal tubules	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Nephrology	6. 最初と最後の頁 1158 ~ 1160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10157-021-02076-x	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 Arai Momoko, Mii Akiko, Kashiwagi Tetsuya, Shimizu Akira, Sakai Yukinao	4. 巻 11
2. 論文標題 The severity of glomerular endothelial cell injury is associated with infiltrating macrophage heterogeneity in endocapillary proliferative glomerulonephritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-92655-5	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 Kimura Hidehito, Mii Akiko, Shoji Jun, Arakawa Yusuke, Shimizu Akira	4. 巻 78
2. 論文標題 Immunohistochemical detection of citrullinated histone H3 positive neutrophils is useful for identifying active glomerular and interstitial lesions in antineutrophil cytoplasmic antibody associated vasculitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Histopathology	6. 最初と最後の頁 520 ~ 531
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/his.14247	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 Yamamoto Shinya, Yamamoto Masamichi, Nakamura Jin, Mii Akiko, Yamamoto Shigenori, Takahashi Masahiro, Kaneko Keiichi, Uchino Eiichiro, Sato Yuki, Fukuma Shingo, Imamura Hiromi, Matsuda Michiyuki, Yanagita Motoko	4. 巻 31
2. 論文標題 Spatiotemporal ATP Dynamics during AKI Predict Renal Prognosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Society of Nephrology	6. 最初と最後の頁 2855 ~ 2869
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1681/ASN.2020050580	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 Shoji Jun, Mii Akiko, Terasaki Mika, Shimizu Akira	4. 巻 144
2. 論文標題 Update on Recurrent Focal Segmental Glomerulosclerosis in Kidney Transplantation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nephron	6. 最初と最後の頁 65 ~ 70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000510748	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 Kamano Chisako, Mii Akiko, Osono Eiichi, Kunugi Shinobu, Igarashi Toru, Yanagihara Takeshi, Kaneko Tomohiro, Terasaki Mika, Shimizu Akira	4. 巻 83
2. 論文標題 Development of angiogenic periglomerular microvessels after acute glomerular lesions in IgA nephropathy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Histopathology	6. 最初と最後の頁 617 ~ 630
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/his.14997	査読の有無 無
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 Tominaga Kenta, Toda Etsuko, Takeuchi Kazuhiro, Takakuma Shoichiro, Sakamoto Emi, Kuno Hideaki, Kajimoto Yusuke, Terasaki Yasuhiro, Kunugi Shinobu, Mii Akiko, Sakai Yukinao, Terasaki Mika, Shimizu Akira	4. 巻 -
2. 論文標題 Predominant CD8 ⁺ cell infiltration and low accumulation of regulatory T cells in immune checkpoint inhibitor induced tubulointerstitial nephritis	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.13428	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Nakazato Rei, Mii Akiko, Kamijo Natsumi, Tani Takashi, Arakawa Yusuke, Sakai Yukinao, Iwabu Masato
2. 発表標題 Advanced maternal aged mouse model showed fetal growth restriction and would be a model for the developmental origins of health and disease
3. 学会等名 The 29th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 荒川 裕輔, 三井 亜希子, 柏木 哲也, 清水 章, 酒井 行直
2. 発表標題 Glomerular tip lesionを伴う膜性腎症の臨床病理学的検討
3. 学会等名 日本腎臓学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 新井桃子、三井亜希子、酒井行直、清水章、鶴岡秀一
2. 発表標題 糸球体腎炎の管内増殖性病変における糸球体毛細血管傷害の検討
3. 学会等名 日本腎臓学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中里玲、三井亜希子、酒井行直、鶴岡秀一
2. 発表標題 当院における腎障害を伴う悪性高血圧症15例の臨床的特徴
3. 学会等名 日本腎臓学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 荒川裕輔、三井亜希子、酒井行直、清水章、鶴岡秀一
2. 発表標題 Glomerular tip lesionを伴う膜性腎症の6症例
3. 学会等名 日本腎臓学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三井亜希子
2. 発表標題 実験ことはじめ-you can do it now:ITそれが見えたら研究しよう- 目的とする物質の局在を可視化したい!
3. 学会等名 日本腎臓学会学術集会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 伸也 , 高橋 昌宏 , 山本 恵則 , 大久保 明紘 , 三井 亜希子 , 山本 正道
2. 発表標題 AKI研究の最先端 ATPライブイメージングからせまる腎疾患病態の解明
3. 学会等名 日本腎臓学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 三井 亜希子 , 清水 章 , 上條 夏実 , 中里 玲 , 谷 崇 , 荒川 裕輔 , 大橋 隆治 , 酒井 行直 , 柏木 哲也 , 岩部 真人
2. 発表標題 Glomerular capillary microaneurysmsを伴う糸球体疾患の臨床病理学的特徴
3. 学会等名 日本腎臓学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kamijo Natsumi, Mii Akiko, Nakazato Rei, Shimizu Akira, Sakai Yukinao
2. 発表標題 CitruUinated Histone H3-Positive Neutrophils May Be Associated with Disease Activity in ANCA-Associated Vasculitis
3. 学会等名 American Society of Nephrology, Kidney Week 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Mii Akiko, Yamamoto Shinya, Yamamoto Shigenori, Yanagita Motoko
2. 発表標題 Real-time ATP imaging reveals the metabolic state during kidney development
3. 学会等名 American Society of Nephrology, Kidney Week 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 分担執筆 三井亜希子	4. 発行年 2022年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 436
3. 書名 非腫瘍性疾患病理アトラス 腎	

1. 著者名 三井亜希子、寺崎美佳、清水章	4. 発行年 2021年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 290
3. 書名 ビジュアルアブストラクトで読みとく 腎臓論文ベストセレクション	

1. 著者名 三井亜希子、清水章	4. 発行年 2021年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 325
3. 書名 腎臓内科Controversy	

1. 著者名 分担執筆 三井亜希子	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 2192
3. 書名 今日の治療指針 2023年版 [デスク判]	

1. 著者名 分担執筆 中里玲、三井亜希子	4. 発行年 2023年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 374
3. 書名 腎臓内科診療の掟	

〔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
研究 分担者	清水 章 (Shimizu Akira) (00256942)	日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授 (32666)	

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
---------	---------