

平成22年6月1日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～ 2009

課題番号：19590936

研究課題名（和文） バーター症候群責任遺伝子の臨床的鑑別法と腎電解質代謝の解明

研究課題名（英文） Where is the cause of Bartter' s syndrome in the kidney ?

研究代表者

渡邊 秀美代 (WATANABE SUMIYO)

東京大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：30422314

研究成果の概要（和文）： 腎臓の近位尿細管、ヘンレ上行脚、遠位尿細管に組織特異的に目的遺伝子を発現する方法と、発現させるためのコンストラクトを開発した。まず GFP を組織特異的に発現させてその発現特異性を確認したが、次にカルシウム感受受容体の活性型変異をもつコンストラクトを作成し、この表現型をみることで腎臓におけるカルシウム感受受容体の各部位における機能を比較検討する(この課程は現在途上である)。

研究成果の概要（英文）： We developed the expression method using tissue-specific promoters and it resulted in site-specific EGFP expression within the kidney. Adenovirus expression could be limited to the thick ascending limb of Henle (TALH), proximal tubules, or collecting ducts of the kidney without causing liver expression or kidney damage. We investigated it using GFP protein, and next, we tend to express calcium-sensing receptor.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：バーター症候群、カルシウム代謝、腎機能低下、副甲状腺機能低下症

1. 研究開始当初の背景

腎結石・腎石灰化から腎機能低下をもたらす副甲状腺機能低下症は、症候群として捉えられ、個々の原因に対応した治療法がとられてこなかった。これは臨床的な鑑別方法がないからである。

2. 研究の目的

副甲状腺機能低下症の内、カルシウム感受受容体の活性型変異をもつ症例を臨床的に鑑別する診断基準を明らかにすることで有効な治療法をとれるようにする。

3. 研究の方法

患者様にインフォームド・コンセントをとり、倫理委員会の承認を得て、副甲状腺機能低下症症例の遺伝子解析と血液・尿生化学検査を行ない、カルシウム感受容体の活性型変異症例とそれ以外の原因による副甲状腺機能低下症症例の差異を検討する。

また、近位尿細管、ヘンレの上行脚、遠位尿細管それぞれに特異的な遺伝子プロモーターの下流に目的遺伝子をつないだアデノウイルスをマウス感染させて表現型をみる。

4. 研究成果

症例の統計的解析ではカルシウム感受容体の活性型変異群と、それ以外の群で有意な統計的差異が認められた。

近位尿細管、ヘンレの上行脚、遠位尿細管に特異的な遺伝子のプロモーターをクローニングし、その下流に活性型変異をもつカルシウム感受容体遺伝子をつないだアデノウイルスをそれぞれ作成した。また、これらをラットに感染させる方法を検討し、近位、ヘンレ、遠位特異的に目的遺伝子を発現させることに成功した。

ただし、カルシウム感受容体活性型変異をもつアデノを感染させた時の表現型と組織解析は現在途上である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 25 件) 全て査読あり。

- 1) Tumor-induced osteomalacia associated with a maxillofacial tumor producing fibroblast growth factor 23: report of a case and review of the literature.

Mori Y, Ogasawara T, et.al.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010 Mar;109(3):e57-63.

- 2) The optimization of porous polymeric scaffolds for chondrocyte/atelocollagen based tissue-engineered cartilage.

Tanaka Y, Yamaoka H, Nishizawa S, Nagata S, Ogasawara T, Asawa Y, Fujihara Y, Takato T, Hoshi K. Biomaterials. 2010 Jun;31(16):4506-16. Epub 2010 Mar 4.

- 3) Aptitude of auricular and nasoseptal chondrocytes cultured under a monolayer or three-dimensional condition for cartilage tissue engineering.

Asawa Y, Ogasawara T, et.al.

Tissue Eng Part A. 2009 May;15(5):1109-18.

- 4) Patched1 haploinsufficiency increases adult bone mass and modulates Gli3 repressor activity.

Ohba S, Kawaguchi H, Kugimiya F,

Ogasawara T, Kawamura N, Saito T, Ikeda T, et.al.

Dev Cell. 2008 May;14(5):689-99.

- 5) Growth factor contents of autologous human sera prepared by different production methods and their biological effects on chondrocytes.

Tanaka Y, Ogasawara T, et.al.

Cell Biol Int. 2008 May;32(5):505-14. Epub 2008 Jan 11.

- 6) Three-dimensional microenvironments retain chondrocyte phenotypes during proliferation culture.

Takahashi T, Ogasawara T, et.al.

Tissue Eng. 2007 Jul;13(7):1583-92.

- 7) Optimal combination of soluble factors for tissue engineering of permanent cartilage from cultured human chondrocytes.

Liu G, Kawaguchi H, **Ogasawara T**, et.al.J Biol Chem. 2007 Jul 13;282(28):20407-15. Epub 2007 May 10.

- 8) Transcriptional regulation of endochondral ossification by HIF-2alpha during skeletal growth and osteoarthritis development.

Saito T, et.al.

Nat Med. 2010 Jun;16(6):678-86. Epub 2010 May 23.

- 9) Akt1 in murine chondrocytes controls cartilage calcification during endochondral ossification under physiologic and pathologic conditions.

Fukai A, Kawamura N, **Saito T**, Oshima Y, **Ikeda T**, et.al.

Arthritis Rheum. 2010 Mar;62(3):826-36.

- 10) Mechanisms underlying catabolic and anabolic functions of parathyroid hormone on bone by combination of culture systems of mouse cells.

Shinoda Y, Kawaguchi H, Higashikawa A, Hirata M, Miura T, **Saito T**, et.al.

J Cell Biochem. 2010 Mar 1;109(4):755-63.

- 11) Screening of chondrogenic factors with a real-time fluorescence-monitoring cell line ATDC5-C2ER: identification of sorting nexin 19 as a novel factor.

Kan A, **Ikeda T**, **Saito T**, et.al.

Arthritis Rheum. 2009 Nov;60(11):3314-23.

- 12) C/EBPbeta Promotes transition from proliferation to hypertrophic differentiation of chondrocytes through transactivation of p57.

Hirata M, Kugimiya F, Fukai A, Ohba S, Kawamura N, **Ogasawara T**, Kawasaki Y, **Saito T**, Yano F, **Ikeda T**, et.al.

PLoS One. 2009;4(2):e4543. Epub 2009 Feb 20.

- 13) Identification of the core element responsive to runt-related transcription factor 2 in the promoter of human type X collagen gene.

Higashikawa A, **Saito T**, **Ikeda T**, et.al.

Arthritis Rheum. 2009 Jan;60(1):166-78.

- 14) Phosphorylation of GSK-3beta by cGMP-dependent protein kinase II promotes hypertrophic differentiation of murine chondrocytes.

Kawasaki Y, Kugimiya F, Chikuda H, Kamekura S, **Ikeda T**, Kawamura N, **Saito T**, Shinoda Y, Higashikawa A, Yano F, **Ogasawara T**, et.al.

J Clin Invest. 2008 Jul;118(7):2506-15. Erratum in: J Clin Invest. 2008 Aug;118(8):2986.

15) Patched1 haploinsufficiency increases adult bone mass and modulates Gli3 repressor activity.

Ohba S, Kawaguchi H, Kugimiya F, **Ogasawara T**, Kawamura N, **Saito T**, **Ikeda T**, et.al.

Dev Cell. 2008 May;14(5):689-99.

16) Analysis of the Runx2 promoter in osseous and non-osseous cells and identification of HIF2A as a potent transcription activator.

Tamiya H, **Ikeda T**, Jeong JH, **Saito T**, et.al.

Gene. 2008 Jun 15;416(1-2):53-60. Epub 2008 Mar 15.

17) Akt1 in osteoblasts and osteoclasts controls bone remodeling.

Kawamura N, Kugimiya F, Oshima Y, Ohba S, **Ikeda T**, **Saito T**, et.al.

PLoS One. 2007 Oct 24;2(10):e1058.

18) Identification and characterization of the human SOX6 promoter.

Ikeda T, **Saito T**, et.al.

Biochem Biophys Res Commun. 2007 Jun 1;357(2):383-90. Epub 2007 Apr 2.

19) S100A1 and S100B, transcriptional targets of SOX trio, inhibit terminal differentiation of chondrocytes.

Saito T, **Ikeda T**, et.al.

EMBO Rep. 2007 May;8(5):504-9. Epub 2007 Mar

30.

他多数

[学会発表] (計 0 件)
論文が受理されてから発表予定
[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：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等
特記すべきことなし

6. 研究組織

(1) 研究代表者
渡邊秀美代 (WATANABE SUMIYO)
東京大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：30422314

(2) 研究分担者
齋藤琢 (SAITO TAKU)
東京大学・医学部附属病院・特任助教
研究者番号：30456107

(3) 連携研究者
池田敏之 (IKEDA TOSIYUKI)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80322759
小笠原徹 (OGASAWARA TORU)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：20359623

内田俊也 (UCHIDA SHUNYA)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号：50151882

鈴木信周 (SUZUKI NOBUCHIKA)

東京大学・先端科学技術研究センター・特任助教

研究者番号：90247007

本田善一郎 (HONDA ZENITIRO)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70238814