

令和元年6月24日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21395

研究課題名(和文)腎糸球体常在CD206陽性細胞をターゲットとした糸球体腎炎制御法の確立

研究課題名(英文) Establishment of glomerulonephritis therapeutic method targeting renal glomerular resident CD206 positive cells

研究代表者

唐澤 一徳 (Karasawa, Kazunori)

東京女子医科大学・医学部・准講師

研究者番号：60746452

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：糸球体に常在しているCD206陽性マクロファージは糸球体という特別な血管周囲に存在する血管周皮細胞の一亜型でもあるとの仮説に基づき研究を展開した。CD206陽性細胞という母集団の中で糸球体において周皮細胞的役割を担っていると考えられているメサンギウム細胞に発現している表面抗原の中からCD206と共発現している細胞を探索した。メサンギウム細胞マーカーの一つであるCD140bがCD206陽性細胞に共発現していることを確認した。CD206、CD140b共発現細胞に着目し、機能解析のためLPS誘導腎炎モデルを確立した。次に、CD206とCD140b共陽性細胞の単離法の確立を模索した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糸球体腎炎の治療戦略は、近年、大きく変遷をとげてきている。しかし、現在までのところ腎臓特異的に炎症病態を制御する治療法の確立には至っていない。今回、糸球体に常在するCD206陽性マクロファージサブセット着目し、糸球体に常在するCD206陽性マクロファージの一部に、メサンギウム細胞マーカーであるCD140bを共発現している細胞があることをつきとめた。この細胞は糸球体腎炎治療のターゲットとなりうる細胞であるばかりでなく、定常状態でも存在していることから生理学的にも糸球体係蹄の機能に何らかの役割を担っている可能性があり、今回の実験結果がもつ社会的、学術的意義は大きいと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Studies were developed based on the hypothesis that CD206-positive macrophages, which are resident in glomeruli, are also a subtype of perivascular cells located around special blood vessels called glomeruli. Among the population of CD206 positive cells, among the surface antigens expressed on mesangial cells considered to play a pericyte-like role in glomeruli, cells co-expressed with CD206 were searched. It was confirmed that CD140b which is one of mesangial cell markers was coexpressed in CD206 positive cells. We focused on CD206 and CD140b co-expressing cells and established LPS-induced nephritis model for functional analysis. Next, we sought to establish a method of isolating CD206 and CD140b co-positive cells.

研究分野：腎臓学

キーワード：CD206陽性細胞 マクロファージ メサンギウム細胞 周皮細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

組織常在マクロファージは、各組織に定常状態でも存在しているマクロファージと定義され、肝臓におけるクッパー細胞、皮膚におけるランゲルハンス細胞、肺における肺泡マクロファージなどがある。起源や機能の点においては様々な多型が存在していることが近年明らかにされてきているが未だ不明な点も多い。マクロファージ元来の機能である死細胞や外来抗原をクリアランスするための貪食能とこれらを適切なエフェクター細胞に提示する抗原提示能は生体の恒常性維持(抗炎症性)や生体防御(炎症性)の両面で必須の機能である。常在マクロファージがこの能力を基盤として局所において抗炎症性(M2 macrophages)、炎症性(M1 macrophages)どちらの機能的方向性をもったマクロファージとして振る舞うかは各々のマクロファージが常在する周囲微小環境によって決定づけられると考えられている(Luke C Davies, et al; Nat.Rev.Immunol.2013;10:986-995)。すなわち臓器特有の微小環境によって臓器特異度の高い機能を有したマクロファージが存在している可能性を示唆している。本研究は、この臓器特異的機能を有したマクロファージ多型が存在している可能性に着目し、腎系球体に局在するマクロファージ多型を同定し解析できれば新規系球体腎炎治療法の開発につながりうると考えたものである。

### 2. 研究の目的

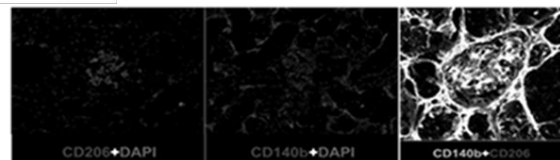
系球体腎炎の治療戦略は、近年の生物学的製剤の目覚ましい進歩や従来のステロイド治療に伴う様々な副作用集積データの勘案によって大きく変遷をとげてきている。しかし、現在までのところ腎臓特異的に炎症病態を制御する治療法の確立には至っていない。腎臓特異的治療法の開発は、従来の治療法では達成できなかった治療効果が期待できるのみならず、従来の治療法によって生じる副作用を軽減することにもつながりうると考えられる。現在、我々は系球体のメサンギウム領域に常在する CD206 陽性細胞 (CD206 陽性マクロファージサブセット及び CD206 陽性メサンギウム細胞)に着目しこれを単離、同定するとともにメサンギウム増殖性系球体腎炎誘導マウスにおける機能や他の系球体構成細胞との相互作用についての詳細な分子メカニズムを解明し、腎臓特異的に作用しうる新規系球体腎炎治療法の確立につなげていくことを目的とした。

### 3. 研究の方法

我々は、全研究をマウスを用いた実験を行った。今までの研究成果から系球体のみ局在している可能性が高い CD206 陽性細胞に着目することとしていたことから、まず CD206 分子が系球体構成細胞のうちどの細胞に発現しているかを免疫組織化学染色法を用いて解析した。さらにこの細胞の機能解析を行うにあたり定常状態と病的状態での機能を解析すべく LPS (Lipopolysaccharide) 誘導系球体腎炎モデルを確立した。その後、CD206 陽性細胞をマイクロビーズを用いた単離法にてまず系球体の純度の高い単離を試みた。その上でフローサイトメトリー法を用いて系球体に局在する CD206 陽性細胞のみを単離することを試みたが、系球体単離と CD206 陽性細胞の単離という二回の単離工程を行う過程で高い純度を保つことが非常に困難であった。次の実験工程として CD206-DTR マウスによる CD206 陽性細胞の有無による LPS 誘導系球体腎炎の重症度評価や高い純度 CD206 陽性細胞の単離法が確立した後に、CD206 マクロファージ等の遺伝子解析をマイクロアレイ法を用い行うこととした。

### 4. 研究成果

系球体内の CD206 陽性細胞に着目し、免疫組織化学染色法にて CD206 陽性マクロファージは定常状態でメサンギウム領域の係蹄腔近傍に局在していたことから、まず我々は CD206 陽性マクロファージは系球体という特別な血管周囲に存在する血管周皮細胞の一亜型でもあるとの仮説に着想し、CD206 と周皮細胞マーカーの一つである CD140b との共染色を行った。結果は大多数の CD206 陽性マクロファージが CD140b を発現していることを確認しえた。このことよりメサンギウム領域に存在する細胞の中には、CD206+CD140b 共陽性細胞と CD140b 単陽性細胞の少なくとも二種類が存在している可能性が示された(図)。このうち、CD206+CD140b 共陽性細胞は系球体係蹄腔を支持する周皮細胞の性質とマクロファージの機能も有する細胞である可能性があり、IgA 腎症に代表されるメサンギウム増殖性系球体腎炎の病態進展において非常に重要な因子となっている可能性が高いと考えられた。我々は、この CD206、CD140b 共発現細胞に着目し、その定常状態と病的状態での機能解析のため LPS 誘導腎炎モデルの確立を試みた。マウス腹腔内に LPS を投与 24 時間後の組織所見では系球体係蹄腔への炎症細胞浸潤とメサンギウム領域の細胞増多と基質の増加を認め、感染後系球体腎炎にメサンギウム増殖性系球体腎炎が加わったような系球体腎炎像を再現性をもって誘導し得た。LPS 投与後 1 週間での組織では分節性系球体硬化病変も認められた。次に、上記通り CD206 陽性細胞をマイクロビーズを用いた単離法にてまず系球体の純度の高い単離を試みた。その上でフローサイトメトリー法を用いて系球体に局在する CD206 陽性細胞のみを単離



することを試みたが、糸球体単離と CD206 陽性細胞の単離という二回の単離工程を行う過程で高い純度を保つことが非常に困難であった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

腎糸球体常在 CD206、CD140 b 共陽性マクロファージの解析  
20778 P-366

日本腎臓学会総会 (2018 年 6 月 9 日)

腎糸球体常在 CD206 陽性マクロファージの機能解析  
20737 P-334

日本腎臓学会総会 (2017 年 5 月 28 日)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 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 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

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号 (8 桁):

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

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。