

令和 3 年 5 月 22 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15978

研究課題名（和文）系球体上皮細胞障害へのsemaphorin3aの病態機序の解明

研究課題名（英文）The elucidation of the pathological mechanism of semaphorin3a in glomerular podocyte injury

研究代表者

辻 憲二 (Tsuji, Kenji)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：10816995

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）：本研究では、系球体上皮細胞におけるSemaphorin3Aの発現亢進が、系球体上皮細胞障害の進展に關与することを明らかにした。Adriamycin惹起性系球体上皮細胞障害マウスモデルにおいて、系球体上皮細胞のSemaphorin3Aの発現が増加することにより、c-Jun N-terminal kinaseシグナルが活性化され、それによりアポトーシスが引き起こされることを証明した。Adriamycinによる系球体上皮細胞障害がSemaphorin3A阻害剤によって軽減されることを解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

系球体上皮細胞障害の病態機序をSemaphorin3Aに着目して明らかにし、さらにSemaphorin3A阻害剤を用いた系球体上皮細胞保護効果を証明した。これらの研究成果は、国内外において初めて報告された独創的な研究成果であり、Semaphorin3A制御による系球体上皮細胞障害に対する新規治療法につながる治験である。

研究成果の概要（英文）：In this study, we identified that the upregulation of Semaphorin3A in glomerular epithelial cells is involved in the development of glomerular epithelial cell damage. In a mouse model of Adriamycin-induced glomerular epithelial cell injury, we identified that the increased expression of Semaphorin3A in glomerular epithelial cells induces apoptosis, and that the disorder is alleviated by a Semaphorin3A inhibitor.

研究分野：腎臓病

キーワード：系球体上皮細胞 Semaphorin3A 蛋白尿

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腎臓の重要な役割の一つは、糸球体上皮細胞、糸球体基底膜および糸球体内皮細胞からなる糸球体濾過バリアであり、その中の糸球体上皮細胞は、隣り合った上皮細胞は互いの足突起を絡み合わせて特徴的なスリット膜と呼ばれる細胞間結合をもち、糸球体濾過バリアの浸透性を保つのに不可欠である。一方で糸球体濾過バリアにかかわる重要性は長年にわたり解明されてきたが、上皮細胞障害後にどのように濾過バリアが障害されて蛋白尿を呈するかについてはいまだに不明である。

Semaphorin は細胞間のシグナル伝達に関わるタンパク質群であり、神経回路の形成に関わる蛋白として発見された(Kolodkin AL et al, Cell, 1993)。Semaphorin は Sema ドメインに隣接する部分の配列の違いより 7 種類のクラスに分けられており (Goodman CS et al, Cell, 1999)、この中で Semaphorin3A (以下 SEMA3A) は神経細胞の遊走、血管新生、免疫システムや癌の浸潤を制御することが知られている。主に semaphorin は神経や血管、免疫などで検討されており、腎臓に関する知見は少ない。我々のグループは、これまで SEMA3A の尿中レベルが、微小変化型ネフローゼ症候群患者の疾患活動性と強く関連することを解明した (Inoue-Torii A et al, Int J Nephrol Renovasc Dis, 2017)。このことから臨床においても SEMA3A と腎疾患活動性との関与が考慮される。

2. 研究の目的

本研究では、糸球体上皮細胞障害モデルである Adriamycin 腎症マウスを用いることにより、SEMA3A の糸球体上皮細胞障害への関与を検討するとともに、SEMA3A 阻害剤の糸球体上皮細胞障害に対する保護効果を解析することで SEMA3A の治療標的分子としての有用性を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 糸球体上皮細胞障害モデルとして、BALB/C マウスを用いて Adriamycin 腎症マウスを作製し、糸球体上皮細胞障害及び蛋白尿の程度を評価した。ウェスタンブロット法及び蛍光免疫染色法により SEMA3A の発現程度について検討した。

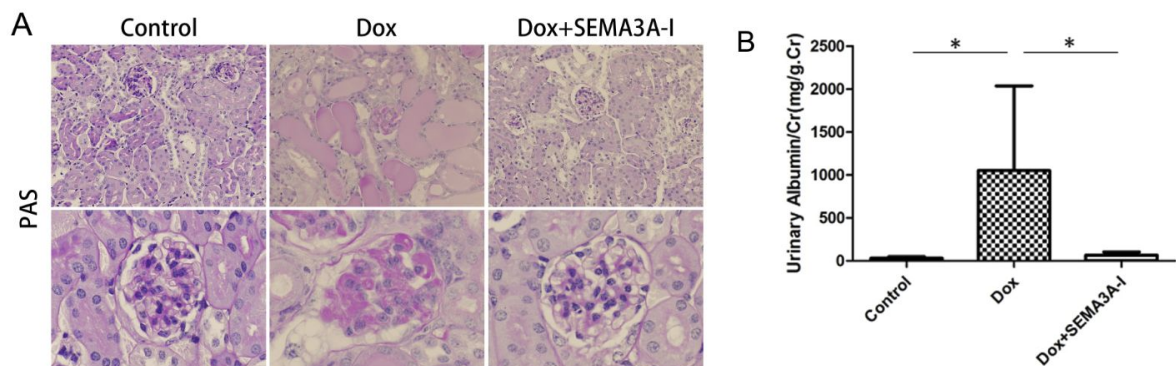
(2) Adriamycin 腎症マウスに対して SEMA3A 阻害剤を投与し、糸球体上皮細胞障害及び蛋白尿の程度に対する治療効果を検討した。また、糸球体上皮細胞のアポトーシスの程度を比較検討した。

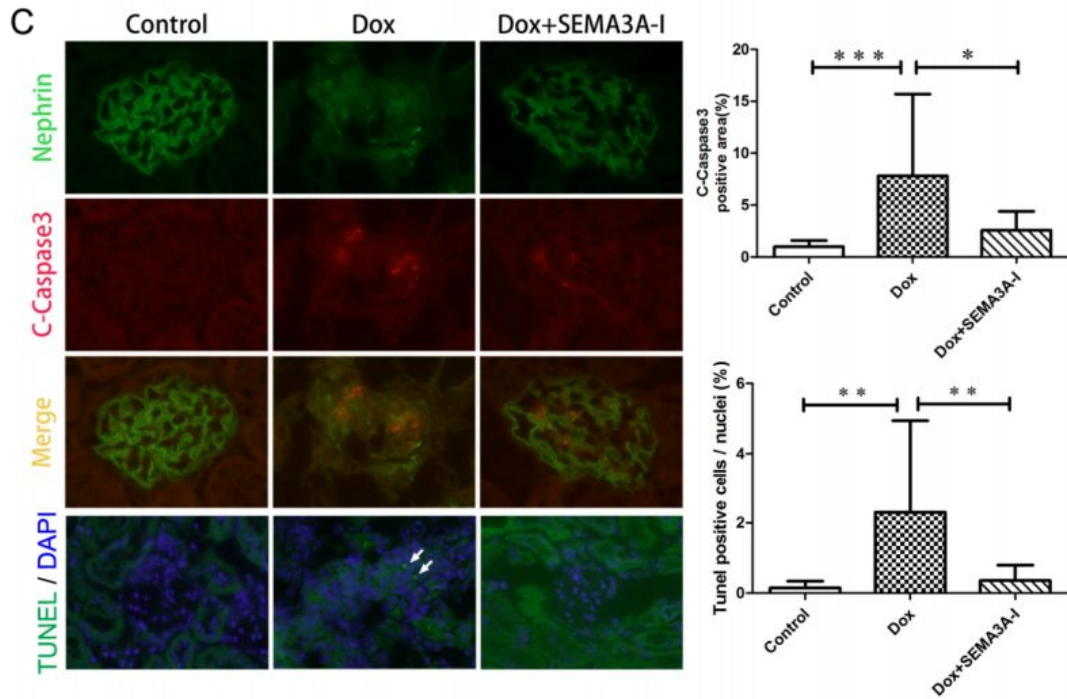
(3) 培養糸球体上皮細胞を用いて、Adriamycin による上皮細胞障害に対する SEMA3A 阻害剤の保護効果を検討した。また、SEMA3A 経路が関与するシグナル経路の検討を行った。

4. 研究成果

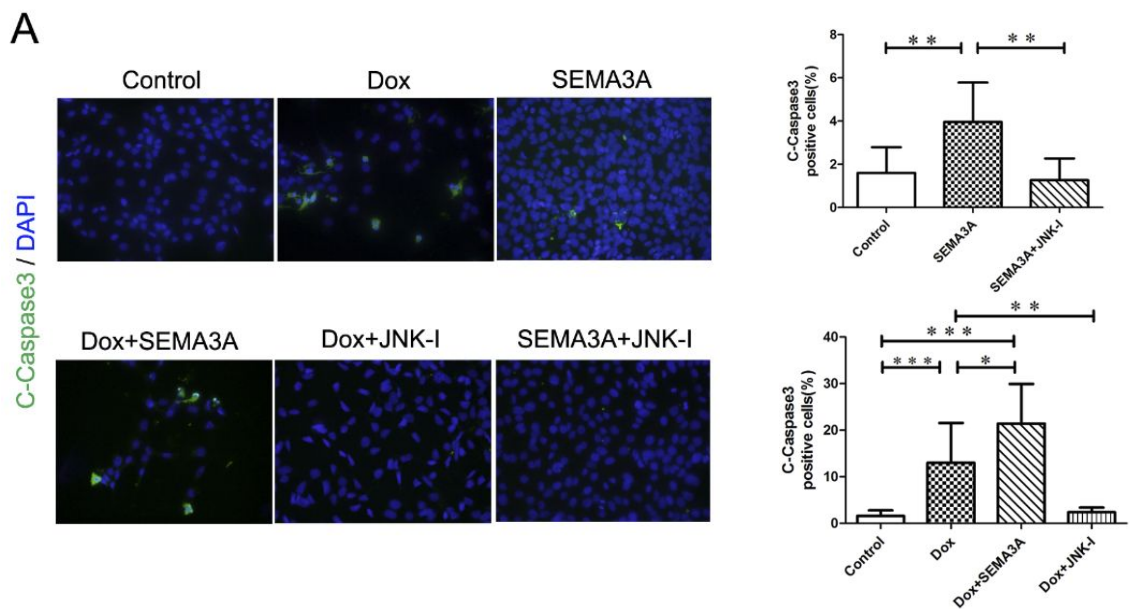
(1) BALB/C マウスに Adriamycin 腎症を惹起させると、対照群と比較して尿中アルブミンは排泄が増加し、硬化糸球体の出現を認めた。蛍光免疫染色法では、Adriamycin 腎症によりスリット膜蛋白の Nephritin が減少し、SEMA3A の発現亢進を認めた。ウェスタンブロット法でも同様に SEMA3A の発現亢進を認めた。

(2) Adriamycin 腎症マウスに SEMA3A 阻害剤を連日投与したマウスでは、尿中アルブミン排泄は有意に低く、硬化糸球体数も減少した。蛍光免疫染色法では、Adriamycin による Nephritin 発現の減少は抑制された。Cleaved-Caspase3 抗体を用いた蛍光免疫染色法及び TUNEL 染色によるアポトーシスの評価では、Adriamycin により糸球体上皮細胞のアポトーシスは増加したが、SEMA3A 阻害剤の投与によりアポトーシスは軽減した。





(3) 培養系球体上皮細胞に Adriamycin あるいは recombinant SEMA3A を投与すると、Cleaved-Caspase3 陽性アポトーシス細胞が増加したが、SEMA3A 阻害剤を併用することで Adriamycin によるアポトーシスが抑制された。また、SEMA3A シグナル経路の下流であることが知られる c-Jun N-terminal kinase(JNK)シグナルに着目し解析したところ、JNK 阻害剤 (SP600125)併用により、SEMA3A 投与によるアポトーシスが抑制されたことより、SEMA3A による系球体上皮細胞のアポトーシスは JNK シグナルを介することが示された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Matsuoka Natsumi, Tsuji Kenji, Ichihara Eiki, Hara Takayuki, Fukushima Kazuhiko, Toma Kishio, Kitamura Shinji, Inagaki Kenichi, Sugiyama Hitoshi, Wada Jun	4. 巻 21
2. 論文標題 Pembrolizumab-induced hypothyroidism caused reversible increased serum creatinine levels: a case report.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC nephrology	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12882-020-01775-z	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 Tsuji Kenji, Kitamura Shinji, Wada Jun	4. 巻 2018
2. 論文標題 Secretomes from Mesenchymal Stem Cells against Acute Kidney Injury: Possible Heterogeneity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem Cells International	6. 最初と最後の頁 1~14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2018/8693137	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 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yizhen Sang, Kenji Tsuji, Kazuhiko Fukushima, Shinji Kitamura, Jun Wada
2. 発表標題 Semaphorin3A-inhibitor ameliorates renal fibrosis in unilateral ureter obstruction mice.
3. 学会等名 Kidney week 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 辻憲二, Yizhen Sang, 福島和彦, 高橋謙作, 喜多村真治, 和田淳
2. 発表標題 Semaphorin3Aを介したポドサイト障害機序の解明
3. 学会等名 第10回腎不全研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yizhen Sang, Kenji Tsuji, Akiko Inoue-Torii, Kazuhiko Fukushima, Shinji Kitamura, Jun Wada
2. 発表標題 Semaphorin3A-inhibitor ameliorates podocytopathy in doxorubicin-induced renal injury.
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yizhen Sang, Kenji Tsuji, Akiko Inoue-Torii, Kazuhiko Fukushima, Shinji Kitamura, Jun Wada
2. 発表標題 Semaphorin3A-inhibitor Ameliorates Podocytopathy and Tubular Fibrosis in Adriamycin-induced Renal Injury
3. 学会等名 Kidney Week 2018, American Journal of Nephrology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yizhen Sang, Kenji Tsuji, Akiko Inoue-Torii, Kazuhiko Fukushima, Shinji Kitamura, Jun Wada
2. 発表標題 Semaphorin3A-inhibitor ameliorates podocytopathy in doxorubicin-induced renal injury
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔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
---------	---------