

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22620

研究課題名（和文）成熟に伴う臓器の機能獲得と疾患感受性獲得の分子メカニズムの解明

研究課題名（英文）Molecular mechanisms underlying the acquisition of organ function and disease susceptibility during maturation

研究代表者

柳田 素子（Motoko, Yanagita）

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：70378769

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：腎臓は発生過程で形態形成が終了した後に、成熟の過程で、多彩な機能を獲得する。形態形成のメカニズムはこれまで詳細に解析が進められてきたが、未熟な臓器がどのように機能獲得（成熟）するのかについては明らかにされていない。本研究では、性成熟に伴い、雌マウスの腎臓において形態的变化と遺伝子発現変化が惹起されること、その変化は卵巣摘除で抑制されることを見出した。加えて、性成熟期に卵巣摘除を行った後に腎障害を惹起すると、腎障害が軽減した。以上の結果から、性成熟に伴い、腎臓は多彩な機能を獲得する一方で、疾患感受性を獲得することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

成熟に伴う機能獲得と疾患感受性上昇は疫学的には示されていたが、そのメカニズムは未解明であった。機能獲得と疾患感受性獲得が性成熟の過程で制御されるという知見は新規性が高い。さらに本課題は、臓器機能や疾患感受性の性差がどのようにして形作られるかという根源的問いに対する知見を提供することができる。

研究成果の概要（英文）：After morphogenesis is completed during development, the kidney acquires a variety of functions during maturation. Although the mechanism of morphogenesis has been analyzed in detail, how the immature organ acquires functions (maturation) has not been clarified. In this study, we found that morphological and gene expression changes were induced in the kidney of female mice during sexual maturation, and that these changes were suppressed by ovariectomy. In addition, ovariectomy during sexual maturation before kidney injury alleviated renal damage. These results indicate that the kidney acquires various functions and susceptibility to disease with sexual maturation.

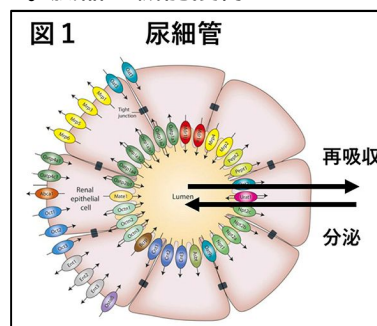
研究分野：腎臓内科学

キーワード：成熟

## 1. 研究開始当初の背景

臓器は発生過程で形態形成が終了した後に、成熟の過程で、多彩な機能を獲得する。発生過程の形態形成はこれまで詳細に解析が進められてきたが、未熟な臓器がどのように機能獲得(成熟)するのかについてはほとんど明らかにされていない。臓器の機能獲得メカニズムは、再生医療分野における再生臓器の機能向上にも重要である。

腎臓の機能単位である「ネフロン」では、まず血液が「糸球体」で濾過され、原尿が「尿細管」を通過する過程で糖やアミノ酸、脂肪酸といった栄養素が種々のトランスポーターを介して「再吸収」されるとともに、血中の毒物を尿中に「分泌」することで、体内環境を一定に保つ(図1)。新生児の腎臓は成人の腎臓とほぼ同じ構造だが、その機能は成人に比して著しく劣っている。しかしながら、腎臓がどのようにして成熟の過程で機能獲得するかは明らかでない。



一方、腎臓病の進行速度は小児よりも成人で速く、成熟とともに疾患感受性が増すことが疫学的に知られているため、「成熟に伴う機能獲得と疾患感受性上昇に共通したメカニズム」の存在が示唆される。

臓器は成熟の過程で多彩な機能を獲得するが、得られた機能は老化に伴い、再び低下する。一方、疾患に伴い、臓器が障害されると一過性に機能が低下するが、修復とともに、その機能は再び獲得される。従来、「修復過程」は発生とのアナロジーで語られることが多かったが、申請者は、これまでの腎臓の障害・修復機構の解析を通して、1種類の前駆細胞から10種類以上のネフロン構成細胞が分化する発生過程よりも、未熟な細胞が分化し、機能を獲得する「成熟過程」のほうが、より「修復過程」に類似しているのではないかと考えた。実際に申請者が同定した「成熟遺伝子」の多くは、腎障害からの修復の過程でも再上昇することを確認している。成熟が機能獲得をもたらすメカニズムは未解明であり、本申請課題で明らかにすることができれば、修復過程の促進にも役立つ知見となることが期待できる。

一方、本邦の末期腎不全患者数は男性が女性の約2倍と非常に性差が大きい。このことから、申請者は性差をもたらす疾患感受性の違いに興味を持ち、過去には、エストロゲン受容体調節薬(SERM)が線維芽細胞の形質転換を阻害することで線維化と腎性貧血を抑制することを報告した(Yanagita M et al. J Clin Invest 2011)。申請者は、性成熟が疾患感受性を制御するメカニズムをさらに明らかにしたいとも考え、本研究を着想した。

## 2. 研究の目的

本課題では腎臓を題材にとり、成熟に伴う「機能獲得」と「疾患感受性上昇」の制御メカニズムを明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

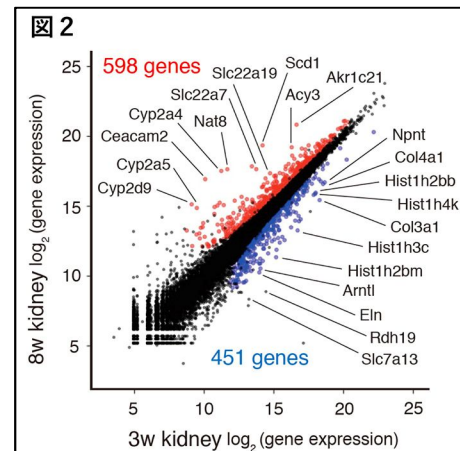
マウスは生後1週間程度で腎前駆細胞が消失するとともに腎臓の形態形成が終了し、生後3週間で離乳した後に、性成熟が起きる。本研究では、生後3週齢と8週齢の雌マウスの腎臓を未熟腎と成熟腎としてGeneChipとCAGE(網羅的遺伝子発現解析とともに各遺伝子の転写開始点を同定する手法)を用いた未熟腎と成熟腎の網羅的解析を行った。

加えて、成熟の前後に卵巣摘除を行うことで、卵巣摘除が遺伝子発現に与える影響を解析した。さらに、虚血再灌流モデルを用いて、成熟前後の卵巣摘除が疾患感受性に与える影響を解析した。最後に、iPS細胞由来腎臓オルガノイドに性ホルモンを添加することで成熟度の変化を検証した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 成熟遺伝子群の同定

まず、3週齢と8週齢の雌マウスの腎臓を比較すると、8週齢マウスのほうが糸球体密度が低く、近位尿細管が伸長していることが示唆された。さらに GeneChip と CAGE を用いた未熟腎と成熟腎の網羅的解析を行い(図2)成熟に伴い、特に再吸収に重要な役割を果たす「近位尿細管」に存在する一群のトランスポーター(Slc22a7 など)や代謝酵素(Cyp2d9 など)が発現増加することを見出した。成熟に伴い、変動する遺伝子群の上流の転写因子結合配列を解析すると、成熟に伴い、結合する転写因子が変化することも示唆された。



##### (2) 性成熟と腎臓の成熟の関係の解析

次に、性成熟と機能獲得との関連性を明らかにすることをこころみた。マウスは生後4週ごろから性成熟が起きることから、3週齢で卵巣摘除を行い、性ホルモンへの暴露を阻害した「性成熟欠如群」を作成し、この群で腎成熟がどのように修飾されるかを対照(sham手術)群と比較し検証した(図3:OVX:卵巣摘除)。

その結果、「性成熟欠如群」では腎成熟が顕著に抑制されること、エストロゲンを投与することで、成熟が再開することが明らかになった。このことから、腎臓の成熟には性成熟が重要な役割を果たすことが示唆された。



##### (3) 性成熟と疾患感受性の関連性の検証

前項で機能獲得において性成熟が重要な役割を果たすことが示唆されたこと、疾患感受性に性差があることから、次に、性成熟に伴う機能獲得と疾患感受性の関連を明らかにすることをこころみた。前述の「性成熟欠如群」および8週齢で卵巣摘除を行う「閉経群」(図3)に虚血再還流障害を惹起し、それぞれの対照(sham手術)群を含めた4群で腎障害感受性を比較した。

その結果、「閉経群」では対照群よりも疾患感受性が増加するのに対して、意外なことに、「性成熟欠如群」では対照群よりも極めて強い疾患抵抗性を示した。この分子基盤を明らかにするために、「性成熟欠如群」と対照群の虚血再還流障害惹起後の網羅的遺伝子発現比較を行い、パスウェイ解析を用いて「性成熟欠如群」で顕著な変化のみられたシグナル経路を複数同定し、その候補分子の conditional knockout mouse を用いて解析中である。

##### (4) iPS細胞由来腎オルガノイドを用いた成熟過程とその制御機構の分子基盤の解析

最後に、iPS細胞由来腎オルガノイドを用いて、性ホルモンと成熟の関連性を検証したところ、エストロゲン添加に伴い、複数のトランスポーター発現が増加することを見出した。

以上の結果から、性成熟に伴い、腎臓は多彩な機能を獲得する一方で、疾患感受性を獲得することが明らかとなった。現在申請者らは、雄マウスを用いた解析も行っており、雌雄の結果を比較することによって、性成熟が腎臓の成熟にもたらす影響をより多面的に理解することができると期待する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

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 Sato Yuki, Boor Peter, Fukuma Shingo, Klinkhammer Barbara M., Haga Hironori, Ogawa Osamu, Floege J?rgen, Yanagita Motoko	4. 巻 98
2. 論文標題 Developmental stages of tertiary lymphoid tissue reflect local injury and inflammation in mouse and human kidneys	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 448 ~ 463
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.kint.2020.02.023	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 該当する

1. 著者名 SATO Yuki, YANAGITA Motoko	4. 巻 95
2. 論文標題 Functional heterogeneity of resident fibroblasts in the kidney	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the Japan Academy, Series B	6. 最初と最後の頁 468 ~ 478
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2183/pjab.95.033	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 Sato Yuki, Yanagita Motoko	4. 巻 15
2. 論文標題 Immunology of the ageing kidney	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Reviews Nephrology	6. 最初と最後の頁 625 ~ 640
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41581-019-0185-9	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 Sato Yuki, Yanagita Motoko	4. 巻 39
2. 論文標題 The unprecedented era of aging	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Inflammation and Regeneration	6. 最初と最後の頁 15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s41232-019-0104-2	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 -

〔学会発表〕 計22件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 Motoko Yanagita
2. 発表標題 Mechanisms of AKI to CKD Transition
3. 学会等名 Asia Pacific AKI to/onCKD Summit 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Sato, Eiichiro Uchino, Akiko Oguchi, Yuichiro Kitai, Shushi Nagamori, Yoshikatsu Kanai, Yasuhiro Murakawa, Motoko Yanagita
2. 発表標題 Essential Roles of Testosterone in Male Kidney Maturation and Repair After Injury
3. 学会等名 Kidney week 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yu Ho Lee, Yuki Sato, Mitsuru Saito, Shingo Fukuma, Nobuhiro Fujiyama, Shigeru Satoh, Sangho Lee, Tomonori Habuchi, Motoko Yanagita
2. 発表標題 Tertiary Lymphoid Tissues in Protocol Biopsies Predict Progressive Graft Dysfunction in Kidney Transplant Recipients
3. 学会等名 Kidney week 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Akiko Oguchi, Motoko Yanagita, Yasuhiro Murakawa
2 . 発表標題 Genome-Wide Identification of Active Enhancers in Renal Aging
3 . 学会等名 Kidney week 2019 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Shigenori Yamamoto, Shinya Yamamoto, Masamichi Yamamoto, Motoko Yanagita
2 . 発表標題 A Novel Kidney Slice Culture System Visualizing Intrarenal ATP and Segment-Dependent Energy Metabolism
3 . 学会等名 Kidney week 2019 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Masahiro Takahashi, Shigenori Yamamoto, Masamichi Yamamoto, Motoko Yanagita
2 . 発表標題 Spatiotemporal ATP Dynamics In Podocytes During Ischemic Reperfusion Injury Predicts Later Foot Process Effacement
3 . 学会等名 Kidney week 2019 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Yuichiro Kitai, Motoko Yanagita
2 . 発表標題 Transiently Dedifferentiated eR1-Active Proximal Tubule Cells Clonally Expand and Repair Proximal Tubules in Severe Injury
3 . 学会等名 Kidney week 2019 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤有紀、柳田素子
2. 発表標題 腎臓の老化と炎症
3. 学会等名 第49回日本腎臓学会西部学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Motoko Yanagita
2. 発表標題 Inflammation and aging
3. 学会等名 FASEB meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳田素子
2. 発表標題 急性腎障害から慢性腎臓病移行へのメカニズム
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本恵則、高橋昌宏、山本伸也、今村博臣、山本正道、柳田素子
2. 発表標題 腎スライス培養を用いたATPイメージング系の樹立と各ネフロンセグメントにおけるATP産生機構の検討
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北井悠一朗、大里元美、柳田素子
2. 発表標題 重度障害では,RUNX1エンハンサー eR1が活性化した近位尿細管上皮細胞が強く増殖し,近位尿細管を修復する
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北井悠一朗、佐藤有紀、小口綾貴子、村川泰裕、柳田素子
2. 発表標題 腎の機能成熟と障害抵抗性のパラドックス
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳田素子
2. 発表標題 Inflammaging in the kidney
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤有紀、北井悠一朗、内野詠一郎、小口綾貴子、永森収志、金井好克、曾我朋義、村川泰裕、柳田素子
2. 発表標題 男性ホルモンによる腎成熟制御機構の多層的オミックス解析
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 山本伸也、山本恵則、高橋昌宏、山本正道、柳田素子
2. 発表標題 生体腎におけるATPイメージング法の確立およびATP動態と腎予後の関連性の解析
3. 学会等名 第116回日本内科学会総会・講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Motoko Yanagita
2. 発表標題 AKI to CKD transition
3. 学会等名 ISN WCN 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北井悠一朗、佐藤有紀、小口綾貴子、村川泰裕、柳田素子
2. 発表標題 腎臓の機能成熟と障害抵抗性のパラドックス
3. 学会等名 第40回日本炎症・再生医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北井悠一朗、佐藤有紀、小口綾貴子、柳田素子
2. 発表標題 腎の機能成熟と障害抵抗性のパラドックス
3. 学会等名 第23回日本心血管内分泌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳田素子
2. 発表標題 急性腎障害 (AKI) から慢性腎臓病 (CKD) への移行メカニズム
3. 学会等名 第47回日本集中治療医学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柳田素子
2. 発表標題 AKI on/to CKD
3. 学会等名 第50回日本腎臓学会東部学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柳田素子
2. 発表標題 AKI to/on CKD
3. 学会等名 18th Asian Pacific Congress of Nephrology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020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
---------	---------