

機関番号：24701
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20591285
 研究課題名（和文）上皮間葉移行（EMT）に着目した多発性嚢胞腎発症機序の分子生物学的検討
 研究課題名（英文）Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in polycystic kidney disease
 研究代表者
 中西 浩一（NAKANISHI KOICHI）
 和歌山県立医科大学・医学部・講師
 研究者番号：50336880

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は PKD における上皮間葉移行（EMT）の役割を明らかにすることである。本研究では、ヒト常染色体劣性多発性嚢胞腎（ARPKD）モデルである PCK ラットの嚢胞性上皮細胞において嚢胞の形成増大に伴い極性の消失が進行し間葉系の形質を獲得しており、PKD の病態に EMT が関与していることが明らかになった。今後さらにその情報伝達系を解明し、病態特異的治療法の開発に発展することが期待される。

研究成果の概要（英文）：We examined the expression of cell adhesion molecules and mesenchymal markers to clarify a role of EMT in PCK rat, an ARPKD model with a mutation in the orthologue of human *PKHD1*. E-cadherin and β -catenin expression levels in cystic tubule was attenuated and localized to lateral cell-cell contacts according to cyst enlargement in PCK rats. Some epithelial cells in large cysts derived from these segments of nephron, especially in adjacent fibrotic area, showed positive immunoreactivity of vimentin and fibronectin. Vimentin and fibronectin positive cells are increased in fibrotic area around cyst. In conclusions, these findings suggested that EMT is involved in pathophysiology of PKD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：小児腎臓病学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：多発性嚢胞腎 遺伝性腎疾患 上皮間葉移行 PCK ラット 間葉系マーカー

1. 研究開始当初の背景

多発性嚢胞腎 (polycystic kidney disease, PKD) は、腎の異形性を伴わない両側びまん性嚢胞形成を特徴とする遺伝性疾患のひとつである。常染色体優性遺伝型 (ADPKD) と常染色体劣性遺伝型 (ARPKD) があり、発症の原因は嚢胞を形成する尿細管上皮細胞の極性欠如であると推測される。細胞極性の消失は上皮間葉移行 (EMT) を特徴づける現象の一つである。EMT の評価は上皮マーカーの発現抑制、間葉系マーカーの発現などによりなされる。E-cadherin は上皮細胞の代表的な接着分子であり細胞極性の確立・維持の中心的役割を担っている。EMT 獲得に伴いその発現が抑制されることから、EMT の代表的な指標の 1 つとなっている。したがって、EMT がこれらの病態生理を引き起こし、嚢胞形成・腎不全進行に関与しているという仮説が成立する。

これまでのところ、PKD の病態生理における EMT の役割は確立しておらず、今後の研究成果が待ち望まれる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、PKD における EMT の役割を明らかにすることである。

3. 研究の方法

ヒト ARPKD 原因遺伝子の相同遺伝子に変異を有する PCK rat において、細胞極性の維持に重要な接着分子である E-cadherin, および β -catenin ならびに N-cadherin と間葉系マーカー (Vimentin, Fibronectin, α -SMA) の発現を経時的かつ尿細管部位特異的に詳細に検討した。生後 0 日, 1, 3, 10, 14 週と 4 か

月の雄 PCK と対照各々 5 匹の腎連続切片を各抗体と尿細管部位特異的マーカーで染色し、嚢胞形成様式と EMT との関連を検討した。

E-cadherin 量は、Western blot 法でも評価した。

4. 研究成果

嚢胞性尿細管上皮の E-cadherin と β -catenin 発現レベルは嚢胞増大に伴い減弱し、加齢に伴い細胞間接着部位に局限した。PCK の嚢胞形成は、正常対照で E-cadherin 発現の強い部位でより重篤であった。PCK における E-cadherin の発現は、Western blot 法でも対照と比較して減弱していた。N-cadherin は正常では発現がない部位において、嚢胞の形成・増大に伴い *de novo* の発現がみられた。間葉系マーカーは嚢胞周辺の腎線維化が明らかになる 10 週以降で、嚢胞性上皮細胞に陽性であった。間葉系マーカーの発現は特に線維化の強い領域の上皮細胞で強かった。

嚢胞性上皮細胞では嚢胞の形成増大に伴い極性の消失が進行し、間葉系の形質を獲得しており、PKD の病態に EMT が関与していると考えられる。

PCK rat における EMT の関与が明らかになった。今後さらにその情報伝達系を解明し、病態特異的治療法の開発に発展することが期待される。

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 1 件)

1. Togawa H, Nakanishi K, Mukaiyama H, Hama T, Shima Y, Sako M, Miyajima M, Nozu K, Nishii K, Nagao S, Takahashi H, Iijima K, Yoshikawa N. Epithelial-to-mesenchymal transition in cyst-lining epithelial cells in an orthologous PCK rat model of autosomal-recessive polycystic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol*. 査読有り, 2011 Feb;300(2):F511-20.

[学会発表] (計 10 件)

1. <シンポジウム> 中西浩一: 小児における ADPKD の実態 市民公開シンポジウム ADPKD-次の世代を考える- 2011 年 2 月 20 日 東京
2. Togawa H, Nakanishi K, Mukaiyama H, Hama T, Shima Y, Miyajima M, Nozu K, Takahashi H, Nagao S, Iijima K, Yoshikawa N. Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) in cpk Mouse, a Model of ARPKD. (43th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov. 18-Nov. 21, 2010 in Denver, USA).
3. 戸川寛子, 中西浩一, 島友子, 佐古まゆみ, 向山弘展, 宮嶋正康, 野津寛大, 吉原大輔, 長尾枝澄香, 飯島一誠, 吉川徳茂: 常染色体劣性多発性嚢胞腎 (ARPKD) モデル cpk マウスの尿細管上皮細胞における上皮間葉移行 (EMT). 第 44 回日本小児腎臓病学会学術集会 (2010. 7. 1-2 大阪)
4. 戸川寛子, 中西浩一, 島友子, 佐古まゆみ, 向山弘展, 宮嶋正康, 野津寛大, 吉原大輔, 長尾枝澄香, 飯島一誠, 吉川徳茂: ヒト ARPKD と相同遺伝子変異を有する PCK rat における上皮間葉移行. 第 53 回日本腎臓学会学術総会 (2010. 6. 16-18 神戸)
5. Togawa H, Nakanishi K, Shima Y, Sako M, Miyajima M, Nozu K, Iijima K, Yoshihara D, Nagao S, Yoshikawa N, Snail1 Is Involved in Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) in Cyst-Lining Epithelial. (42th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Oct. 29-Nov. 1, 2009 in San Diego, USA)
6. <特別講演> 中西浩一: 常染色体劣性多発性嚢胞腎 (ARPKD). 第 17 回嚢胞性腎疾患研究会 2009 年 9 月 12 日 東京
7. 戸川寛子, 中西浩一, 島友子, 佐古まゆみ, 宮嶋正康, 野津寛大, 飯島一誠, 吉原大輔, 長尾枝澄香, 吉川徳茂: ARPKD 相同遺伝子ラットモデルの尿細管上皮細胞における上皮間葉移行 (EMT). 第 44 回日本小児腎臓病学会学術集会 (2009. 6. 26-27 東京)
8. 戸川寛子, 中西浩一, 島友子, 佐古まゆみ, 宮嶋正康, 西井一宏, 長尾枝澄香, 高橋久英, 吉川徳茂: ヒト ARPKD 相同遺伝子ラットモデルにおける尿細管部位特異的嚢胞形成. 第 52 回日本腎臓学会学術総会 (2009. 6. 3-5 横浜)
9. Togawa H, Nakanishi K, Obana M, Shima Y, Miyajima M, Nozu K, Iijima K, Nishi K, Nagao S, Takahashi H, Yoshikawa N: Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Cyst-Lining Epithelial Cells in PCK

Rat. J Am Soc Nephrol 19: 362A, 2008
(41th Annual Meeting of the American
Society of Nephrology, Nov. 6–Nov. 9,
2008 in Philadelphia, USA)

10. 戸川寛子, 中西浩一, 佐古まゆみ, 尾鼻美奈, 島友子, 宮嶋正康, 西井一宏, 長尾枝澄香, 高橋久英, 吉川徳茂: 多発性嚢胞腎 (PKD) の嚢胞形成には E-cadherin/ β -catenin の破綻が関与する 第 43 回日本小児腎臓病学会学術集会 (2008. 6. 13–14 福岡)

[図書] (計 1 件)

1. 中西浩一, 吉川徳茂: 多発性嚢胞腎. 小児疾患診療のための病態生理 1 -改定第 4 版- 『小児内科』『小児外科』編集委員会共編, pp887–891, 東京医学者, 東京, 2008. 11. 30

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中西 浩一 (NAKANISHI KOICHI)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号: 5 0 3 3 6 8 8 0

(2) 研究分担者

吉川 徳茂 (YOSHIKAWA NORISHIGE)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号: 1 0 1 5 8 4 1 2
泉 鉉吉 (IZUMI GENKICHI)
和歌山県立医科大学・医学部・博士研究員
研究者番号: 7 0 4 2 3 9 5 2