

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20790166

研究課題名（和文） 足細胞の観点から原尿産生装置の進化を解明する研究

研究課題名（英文） Evolution of podocyte and primary urine-producing organs

研究代表者

市村 浩一郎 (Ichimura Koichiro)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：10343485

研究成果の概要（和文）：

脊椎動物うち哺乳類と鳥類では血圧が著しく、糸球体の内圧を高く維持できるため、極めて効率のよい糸球体濾過が行われている。しかし、「多濾過型」の糸球体を力学的負荷から保護するメカニズムは十分に分かっていない。液流のセンサーである一次線毛の形態を脊椎動物間で比較したところ、哺乳類と鳥類では糸球体構成細胞の一種（足細胞）において一次線毛が消失することが判明した。これらの動物において足細胞に一次線毛が存在した場合、湧き上がる原尿により一次線毛が絶えず揺り動かされ、細胞内にカルシウムイオンが過剰に流入し、細胞内シグナル伝達系が攪乱される恐れがある。したがって、多濾過型糸球体を持つ動物において足細胞から一次線毛が消失することは合理的な現象と言える。

研究成果の概要（英文）：

Mammals and birds possess high-performance primary-urine producing apparatus (renal glomerulus) by virtue of their high blood pressure. However, the protection mechanisms of glomerular structure from the high intraglomerular pressure and fluid shear stress remain poorly understood. In this study, we found that primary cilium, which is one of the fluid mechanosensors, disappeared from the glomerular podocytes in mammalian and bird metanephros. The primary cilia on the podocytes are subjected to a stronger bending force in mammals and birds. Thus the disappearance of the primary cilia presumably prevents the entry of excessive calcium-ion via the cilium-associated calcium channels and the disturbance of intracellular signaling cascades in podocytes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
2009 年度	800,000	240,000	1,040,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
2011 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・解剖学一般（含組織学・発生学）

キーワード：比較解剖学、比較細胞組織学、比較細胞生物学、腎臓学

1. 研究開始当初の背景

足細胞 podocyte は無脊椎動物から脊椎動物

にいたる動物群（真体腔類）に広く存在し、原尿産生装置の主要部分を構成する。足細胞

の基本構造は共通だが、動物の進化に伴い、形態や発現分子種に様々な修飾が加わる。このような修飾は、足細胞を大きな力学的負荷に適応させ、濾過量の増大を可能にするうえで重要な変化（高度化）である。ところが、過去の研究では足細胞の類似性ばかりが注目され、高度化に関してはそのほとんどが見過ごされてきた。このような状況の中、申請者らは、アクチン細胞骨格の高度化を脊椎動物の足細胞において初めて明らかにしてきた (Ichimura et al. 2003; Ichimura et al. 2007)。

2. 研究の目的

足細胞に起こった細胞骨格（アクチン系と線毛微小管系）とその調節機構の進化過程を比較形態学的・分子細胞生物学的に解明し、原尿産生装置の進化を足細胞の観点から明らかにする。

3. 研究の方法

種々の脊椎動物において、足細胞における細胞骨格（アクチン系と線毛微小管系）の超微形態を透過型電子顕微鏡によって精査・比較する。また、細胞骨格調節因子の発現を *in situ* hybridization 法等で検討する。

4. 研究成果

哺乳類では高い糸球体内圧を維持することで、極めて効率のよい糸球体濾過を実現しているが、このような「高内圧・多濾過型」の糸球体を維持するため、哺乳類には糸球体壁を高い内圧から力学的に保護するための装置が発達している。この保護装置ひとつに、足細胞の足突起にある太いアクチン束があげられる。研究代表者は、アクチン結合タンパク質の一種である Synaptopodin-1 が足突起内に高濃度に局在することで、Alpha-actinin によってできるプリミティブなアクチン線維の束が太い高度なものに発達するのではないかと推測している。この仮説を検証するため、足細胞に太いアクチン束を持たない動物種（ゼブラフィッシュ）において、足細胞に Synaptopodin-1 が発現しているかどうかをこれまで検討してきた。つまり、ゼブラフィッシュにおいて、Synaptopodin-1 が足突起内に存在しなければ、この分子が哺乳類の足突起におけるアクチン束の発達に重要な役割を果たしていることが強く示唆されるわけである。RT-PCR 法では、ゼブラフィッシュの腎組織において *synaptopodin-1* の発現が確認できたが、その発現レベルが低く、*in situ* hybridization 法での発現細胞の同定は極めて困難であった。そこで、Synaptopodin-1 の N 末端領域と GST の融合タンパク質を抗原としてポリクロナール抗体を作製し、免疫組織化学的に *synaptopodin-1* がゼブラフィッシュの足細胞に発現しているかどうかを検討し

たが、この抗体は免疫組織化学法ではワークせず、糸球体における Synaptopodin-1 タンパク質の発現を確かめることはできなかった。現在は別の抗原部位を用いてポリクロナール抗体を作製し、再度 Synaptopodin-1 の局在を検討すべく準備を進めている。

また、本研究において、鳥類や哺乳類では足細胞から一次線毛が消失することが初めて明らかとなった。多濾過型の糸球体をもつ哺乳類や鳥類において足細胞に一次線毛が存在すると、激しく湧き上がる原尿により一次線毛が絶えず揺り動かされ、細胞内にカルシウムイオンが過剰に流入し、足細胞における細胞内シグナル伝達系が攪乱される恐れがある。したがって、多濾過型糸球体を持つ動物において足細胞から一次線毛が消失することは極めて合理的な細胞現象と言える。

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 9 件)

1. Ichimura K, Kurihara H, Sakai T. Primary cilia disappear in rat podocytes during glomerular development. *Cell and Tissue Research* **341**: 197-209 (2010) 査読有

2. Dong HM, Ichimura K, Sakai T. Structural organization of hepatic portal vein in rat with special reference to musculature, intimal folds, and endothelial cell alignment. *Anatomical Record* **293**(11): 1887-95 (2010) 査読有

3. Hosoyamada Y, Ichimura K, Koizumi K, Sakai T. Structural organization of pulmonary veins in the rat lung, with special emphasis on the musculature consisting of cardiac and smooth muscles. *Anatomical Science International* **85**(3):152-9 (2010) 査読有

4. Ichimura K, Kurihara H, Sakai T. β -Cytoplasmic actin distribution in vertebrate glomerular podocytes. *Archives of Histology and Cytology* **72**(3): 165-174 (2009) 査読有

5. Ichimura K, Stan RV, Kurihara H, Sakai T. Glomerular endothelial cells form diaphragms during development and pathologic conditions. *Journal of the American Society of Nephrology* **19**: 1463-1471 (2008) 査読有

[学会発表] (計 13 件)

1. 市村浩一郎、坂井建雄. 糸球体足細胞の構造進化. 第 115 回 解剖学会総会 シンポジウム: 脊椎動物における組織・細胞の構

造進化2010年3月29日 岩手県民会館(盛岡市)

2. 市村浩一郎、栗原秀剛、坂井建雄. 系統発生的にみた足細胞の線毛構造. 比較生理生化学会第31回大会 2009年10月23日 千里ライフサイエンスセンター (大阪市)
3. 市村浩一郎、栗原秀剛、坂井建雄. 糸球体足細胞における1次線毛の消退. 第52回日本腎臓学会総会 2009年6月4日 パシフィコ横浜 (横浜市)
4. 市村浩一郎. 腎糸球体の形成と維持に関わる糸球体構成細胞の細胞生物学的研究. 第114回日本解剖学会総会・全国学術集会(日本解剖学会奨励賞受賞者講演) 2009年3月29日 岡山理科大学(岡山市)
5. 市村浩一郎、栗原秀剛、坂井建雄. 糸球体足細胞におけるアクチンアイソフォームの局在様式. 第51回日本腎臓学会学術総会 2008年5月30日 福岡国際会議場(福岡市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

市村 浩一郎 (Koichiro Ichimura)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号: 10343485