

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 25 年 6 月 14 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590882

研究課題名（和文） 傷害を受けた糸球体上皮細胞に発現するトランスゲリンの機能と発現メカニズムの解明

研究課題名（英文） The function and mechanism of Transgelin that expresses in injured glomerular epithelial cells.

研究代表者

坂爪 実（SAKATSUME MINORU）

新潟大学・医歯（薬）学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：70334662

研究成果の概要（和文）：

Transgelin 分子は、ラットおよびヒトで傷害を受けた糸球体上皮と間質細胞に発現する。傷害された糸球体上皮の foot process が融合した部分に発現し、糸球体上皮細胞の傷害を検出する。腎組織の障害部位特異的に発現し、腎機能の低下は尿細管間質領域の、また尿蛋白量は糸球体領域の Transgelin の発現が規定因子となる。そしてその発現には、TGF β の細胞内伝達因子が大きく作用する。

研究成果の概要（英文）：

Transgelin has been revealed to express in injured glomerular epithelial cells and interstitial cells of both rat and human. It is located in the area of foot process effacement and represents the podocyte injury in glomeruli. The expression is specific for renal cell injury. The extent of its positivity in glomerular or tubulointerstitial area is the determinant of the amount of proteinuria or the deterioration of creatinine clearance (Ccr), respectively. The mechanism of its expression largely depends on the signal transduction of TGF β .

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：ライフサイエンス（共通基盤研究）

科研費の分科・細目：腎臓内科学

キーワード：腎組織障害・トランスゲリン・SM22 α

1. 研究開始当初の背景

本邦では透析療法を必要とする慢性腎不全患者が増加し、原因疾患の慢性腎臓病が心血管系に及ぼす多大な影響が問題となっていて、原因の解明と有効な早期診断法・治療法の開発が急務であった。申請者らは、免疫系と糸球体レジデント細胞の相互作用による糸球体腎炎の病態解明のためDNAマイクロアレイを用いた腎炎組織における網羅的な発現遺伝子解析から、平滑筋特異マーカーとして知られるSM22 α （トランスゲリン）が、腎炎を発症したラットの糸球体に新たに発現することを見出した。さらに、SM22 α は糸球体上皮細胞に発現すること、また足突起の癒合した、基底膜に接するアクチンフィラメントの高密度部位に一致して発現すること、この発現部位と病態生理学的機能は何らかの関連性を有していることを予測していた。

2. 研究の目的

トランスゲリンの機能解析とその発現メカニズムを解明し、腎障害に対する新しい治療法の開発に繋げること、また糸球体上皮細胞障害検出システムを構築して臨床応用することを目的とする。(1) 傷害された糸球体上皮細胞に発現するトランスゲリンの機能と役割を解析する。(2) トランスゲリンの発現のシグナル伝達経路を明らかにする。(3) ヒト腎疾患患者での臨床応用を検討する。

3. 研究の方法

(1) トランスゲリンの機能と役割：ラット腎障害モデルとトランスゲリン・ノックアウトマウスを用いて、腎障害の病像を詳細に解析することでトランスゲリンの機能と役割を決定する。

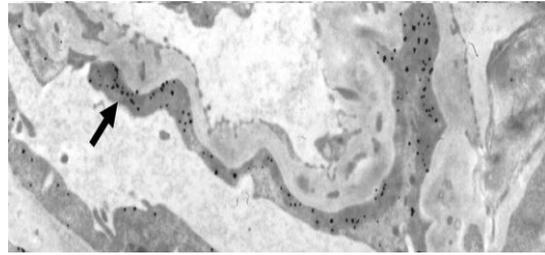
(2) トランスゲリンの発現に関与するシグナル伝達経路：ビオチン標識トランスゲリン遺伝子プロモーター含有配列をストレプトアビジンビーズに結合し、糸球体上皮細胞障害モデルの単離糸球体あるいは培養糸球体上皮細胞から細胞抽出液から特異的結合蛋白を抽出・同定することで、糸球体上皮細胞障害時のトランスゲリンの発現に関与するシグナル伝達経路を解析する。

(3) トランスゲリン検出系確立と病態特異性：ヒト腎炎組織と尿にトランスゲリンを検出する系を確立する。

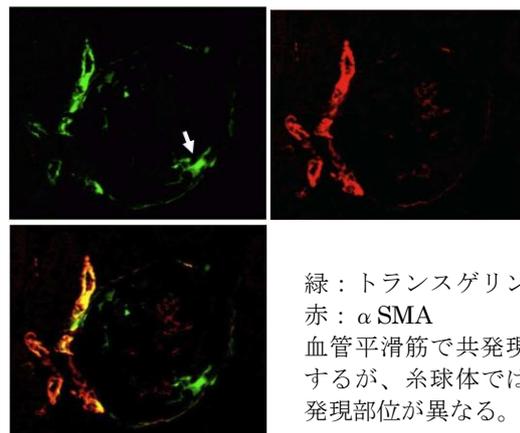
4. 研究成果

(1) 免疫電子顕微鏡(immuno-gold法)により、糸球体上皮に発現するトランスゲリン分

子はfoot processが融合した部分に一致して発現する。このことから、糸球体上皮細胞障害を感知するマーカーとすることができると解った。



(2) 腎細胞の形質変化および線維化のマーカーとして知られる α SMAとの二重染色により、トランスゲリンは α SMAと発現動態を異にする新しい腎細胞障害マーカーであることが明らかとなった。

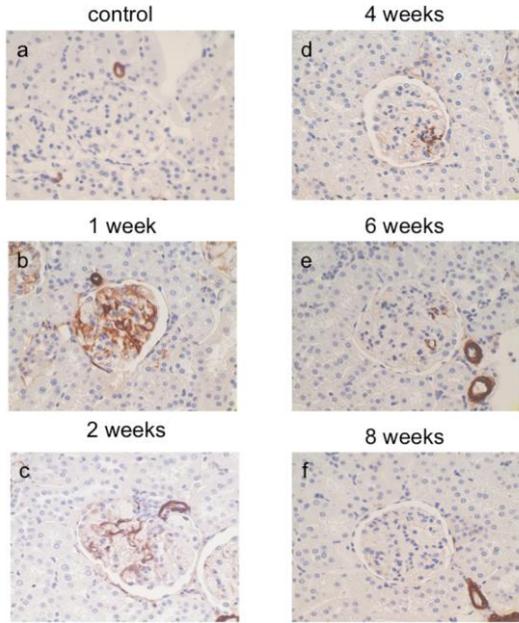


緑：トランスゲリン
赤： α SMA
血管平滑筋で共発現するが、糸球体では発現部位が異なる。

(3) 様々な腎障害モデルによる解析から、糸球体上皮細胞障害モデルでは糸球体上皮細胞のみに、尿細管間質障害モデルでは間質細胞のみにトランスゲリンは発現した。トランスゲリンの障害部位特異的な発現の仕組みが明らかとなった。

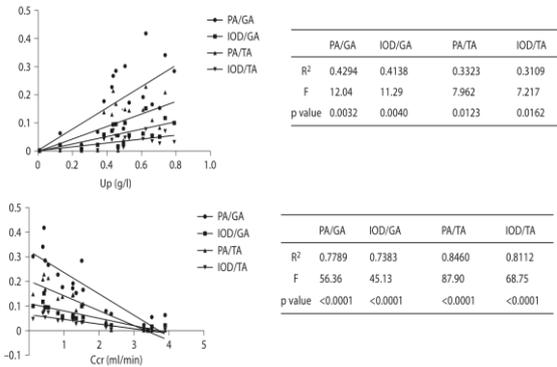
図は、一過性に糸球体上皮細胞障害が惹起されるPuromycin腎症でのトランスゲリンの発現を示す。傷害された糸球体上皮にのみ一過性に発現している。

(血管平滑筋には恒常的に発現を認める)



一過性糸球体上皮細胞障害モデル (Puromycin腎症) におけるトランスゲリンの発現様式

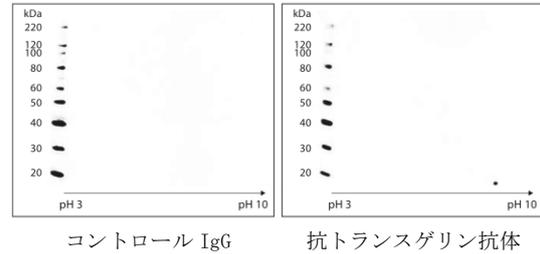
(4) 糸球体障害と尿管間質障害を同時に引き起こすモデルとヒト腎疾患においては、組織変化・トランスゲリン発現様式と臨床データと詳しく比較した結果、腎機能(クレアチニンクリアランス Ccr)の低下は尿管間質領域のトランスゲリン陽性面積が規定因子となることが明らかになった。



尿蛋白量 (UP/Ucr) ・腎機能 (Ccr) とトランスゲリンとの関係 (PA/GA: 糸球体面積当たりのトランスゲリン陽性面積, PA/TA: 尿管領域の面積当たりのトランスゲリン陽性面積)

(5) ノックアウトマウスを使用した腎炎惹起実験から、トランスゲリン+/+マウスでは-と比較して、尿蛋白量には差がないものの、腎機能障害の程度が有意に大きく、トランス

ゲリンが腎障害を助長することが考えられた。そしてトランスゲリンの発現には、TGFβの細胞内伝達因子、Smadが大きく作用することが解った。



* リコンビナントトランスゲリンからモノクロナル抗体を作成し解析に用いた。ラット大動脈抽出液の1スポット (22kDa) を特異的に認識する。

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 8 件)

1) Sakamaki Y, Sakatsume M, Wang X, Inomata S, Yamamoto T, Gejyo F, Narita I: Injured kidney cells express SM22α (transgelin): Unique features distinct from α-smooth muscle actin (αSMA). Nephrology 16(2): 211-218, 2011 (査読有) doi: 10.1111/j.1440-1797

2) Inomata S, Sakatsume M, Sakamaki Y, Wang X, Goto S, Yamamoto T, Gejyo F, Narita I: Expression of SM22α (Transgelin) in Glomerular and Interstitial Renal Injury. Nephron Experimental Nephrology 117(4):e104-113, 2011 (査読有) doi: 10.1159/000329664

3) Wang X, Sakatsume M, Sakamaki Y, Inomata S, Yamamoto T, Narita I: Quantitative Histological Analysis of SM22α (Transgelin) in an Adriamycin-Induced Focal Segmental Glomerulosclerosis Model. Nephron Experimental Nephrology 23;120(1) e1-e11, 2011 (査読有) doi: 10.1159/000329664

4) Kuroda T, Tanabe N, Kobayashi D, Sato H, Wada Y, Murakami S, Sakatsume M, Nakano M, Narita I Programmed initiation of

hemodialysis for systemic amyloidosis patients associated with rheumatoid arthritis.
Rheumatol Int. 31(9):1177-82, 2011 (査読有)
doi: 10.1007/s00296-010-1448-8

5) Nakayama A, Odake J, Kanke A, Sakatsume M, Kasama T, Shiba K: Redox state of urinary albumin in patients with IgA nephropathy.
Rinsho Byori 59(11); 1013-1018, 2011 (査読有)

6) 王 興智: ヒトおよびラット腎疾患における腎細胞障害分子 SM22 α 発現の病理学的意義.
新潟医学会雑誌 125(6); 313-325, 2011 (査読有)

7) 坂爪 実: 尿蛋白・アルブミン測定 of 臨床的有用性
生物試料分析 34(2); 106-110, 2011 (査読有)

8) 坂爪 実: 尿赤血球・尿蛋白泳動・尿免疫細胞解析が示す腎病態.
日本臨床検査自動化学会会誌 35 (2) : 175-177, 2010 (査読無)

[産業財産権]

○取得状況 (計1件)

名称: 腎障害の検出方法
発明者: 坂爪 実 ほか
権利者: 新潟大学
種類: 特許
番号: 4599568号
出願年月日: 平成22年10月8日
国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂爪 実 (Sakatsume Minoru)
新潟大学・医歯(薬)学総合研究科・
非常勤講師
研究者番号: 70334662

(2) 研究分担者

黒田 毅 (Kuroda Takeshi)
新潟大学・保健管理センター・准教授
研究者番号: 00372475

(3) 連携研究者

なし

◇ 研究協力者

酒巻 裕一・大学院生
猪俣 繁・大学院生
王 興智・大学院生