

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461467

研究課題名(和文) 全身性エリテマトーデスに合併するループス腎炎の疾患標的分子と機能解析

研究課題名(英文) Immunologic function of podocytes in lupus nephritis

研究代表者

一瀬 邦弘 (ICHINOSE, Kunihiro)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・講師

研究者番号：60437895

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々はこれまでの研究で、ループス腎炎患者のIgGが健常人のIgGと比較してポドサイトで、様々な機能変化をもたらすことを明らかにした。ループス腎炎患者血清からIgGを分離し、それが細胞培養系ポドサイトにinternalizeされていた。この実験系を用いて免疫学的機序を含めたポドサイトの機能変化をMicroarrayによるGene Ontology解析を行った。その結果、「regulation of T cell activation」が有意な変動を示しており、カルシウム(Ca)/カルモジュリン依存性蛋白キナーゼIV(CaMKIV)などの分子がポドサイトにも影響をもたらす可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We found that exposure of podocytes to IgG resulted in entry of IgG into the cytoplasm. DNA microarray studies of podocytes exposed to LN IgG revealed that genes that are related to the activation of immune cells or podocyte damage were upregulated. LN IgG enters podocytes and upregulates CaMKIV followed by increased expression of genes known to be linked to podocyte damage and T cell activation. Targeted inhibition of CaMKIV in podocytes may prove of clinical use in patients with LN.

研究分野：リウマチ膠原病内科、腎臓病学

キーワード：ループス腎炎 全身性エリテマトーデス ポドサイト

1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス(SLE)に合併するループス腎炎は免疫学的異常を背景として過剰産生された自己抗体(抗 DNA 抗体)が免疫複合体を形成し、糸球体障害を引き起こす疾患である。腎臓におけるネフローゼ症候群では蛋白尿が出現する機序として、糸球体基底膜に存在する糸球体上皮細胞(ポドサイト)の機能異常に起因することが報告されている。ループス腎炎におけるポドサイトの形態異常として足突起の癒合がみられ、さらにポドサイト同士を架橋する、スリット膜構成蛋白である nephrin や podocin の発現低下が報告されている(Lupus 2011; 20: 781-791.)。これらの変化が血管→基底膜→尿管腔のバリア機能異常をもたらす、蛋白漏出の一因となっている可能性が考えられている。このように物理的バリアとしてのポドサイトの役割は解明されつつある。しかしながら、ループス腎炎でみられる免疫学的機序によるポドサイトの機能変化とそれによる腎臓への影響についてこれまで詳細に検討は行われていない。カルシウム(Ca)/カルモジュリン依存性蛋白キナーゼ IV(CaMKIV)は細胞の分化、分泌などの機能に関わる細胞内分子であり、細胞刺激で活性化されることによって細胞質から核内に移行し、転写を制御するキナーゼである。我々は次に掲げる報告から本研究を着想するに至った。

(1) SLE において患者 T 細胞の核内における CaMKIV 発現が亢進している (J Clin Invest 115:996-1005.)。

(2) MRL/lpr マウスに CaMKIV 阻害薬 KN-93 を投与すると、蛋白尿の軽減とループス腎炎の進展抑制効果がみられた。

(3) CaMKIV と類似点のあるカルシニューリン(Ca/カルモジュリン依存性の脱リン酸化酵素)の阻害薬であるシクロスポリンはポドサイトにおけるアクチン細胞骨格に作用し、蛋白尿の軽減効果を有する (Nat Med 2008;14:931-938)。我々はポドサイトにおける CaMKIV 発現に着目し、ループス腎炎における機能的意義を検討した。

2. 研究の目的

ループス腎炎において、自己抗体の出現が疾患活動性と一致することからポドサイトにも機能変化をもたらす可能性が想定される。本研究ではループス腎炎における蛋白尿のメカニズムについて、ポドサイト障害を中心に明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究によって、ループス腎炎におけるポドサイトの機能変化を観察する。

観察、検討項目として以下に挙げる 3 つを中心に取り組んだ。

(1)ヒトの podocyte cell line を用いた、ループス腎炎患者由来 IgG 刺激による CaMKIV の発現変化と CaMKIV に関連する網羅的機能解析。

(2)IgG にて刺激した podocyte を si-RNA

CaMKIV や CaMKIV 阻害薬などで発現を制御し、podocyte 機能の回復や蛋白尿改善効果のメカニズムを明らかにする。

(3)MRL/lpr.CaMKIV ノックアウトマウスにおける podocyte 機能変化の解析、CaMKIV に関連した細胞表面マーカーやシグナル伝達経路の発現変化の観察。

4. 研究成果

我々はこれまでの研究で、ループス腎炎患者の IgG が健常人の IgG と比較してポドサイトで、様々な機能変化をもたらすことを明らかにした(Ichinose K et al; Arthritis Rheumatol. 2016 Apr;68(4):944-52.)。ループス腎炎患者血清から IgG を分離し、それが細胞培養系ポドサイトに internalize されていた。この実験系を用いて免疫学的機序を含めたポドサイトの機能変化を Microarray による Gene Ontology 解析を行った。その結果、「regulation of T cell activation」が有意な変動を示しており、これらに関連する分子がポドサイトにも影響をもたらす可能性が示唆された。

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 11 件)

1. 一瀬 邦弘【全身性エリテマトーデス:病態解明の進歩】神経精神 SLE 炎症と免疫(査読無)25 巻 2 号, 2017, Page133-138
2. Ichinose K, Araki S, Takatani A, Tanaka T, Kawakami A. IgG4-Related Disease With an Aortoduodenal Fistula After Abdominal Aortic Aneurysm Repair. Arthritis Rheumatol. (査読有) 2016 Sep;68(9):2256. doi: 10.1002/art.39777.
3. 一瀬 邦弘「ANCA 関連血管炎-最近の話題-」に寄せる ループス腎炎の疾患標的分子と機能解析 アレルギーの臨床(査読無)36 巻 5 号, 2016, Page458-464
4. Ushigusa T(*), Ichinose K(*equally contribution), Sato S, Michitsuji T, Shimizu T, Umeda M, Fukui S, Nishino A, Nakashima Y, Koga T, Kawashiri SY, Iwamoto N, Hirai Y, Tamai M, Nakamura H, Origuchi T, Kawakami A. Soluble α -klotho is a potential biomarker associated with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. Clin Immunol. (査読有) 2016 Apr;165:29-34. doi: 10.1016/j.clim.2016.03.001.
5. Ichinose K, Arima K, Umeda M, Fukui S, Nishino A, Nakashima Y, Suzuki T, Horai Y, Koga T, Kawashiri SY, Iwamoto N, Fujikawa K, Aramaki T, Tamai M, Nakamura H, Sato S, Origuchi T, Kawakami A. Predictors of clinical outcomes in patients with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. Cytokine (査読有) 2016 Mar;79(3):31-37. doi: 10.1016/j.cyto.2015.12.010
6. Ichinose K, Ushigusa T, Nishino A,

- Nakashima Y, Suzuki T, Horai Y, Koga T, Kawashiri SY, Iwamoto N, Tamai M, Arima K, Nakamura H, Obata Y, Yamamoto K, Origuchi T, Nishino T, Kawakami A, Tsokos GC. Lupus nephritis IgG induces the expression of calcium/calmodulin-dependent kinase type IV in podocytes and alters their function. *Arthritis Rheumatol.* (査読有) 2016 Apr;68(4):944-52. doi: 10.1002/art.39499.
7. Ichinose K, Arima K, Ushigusa T, Nishino A, Nakashima Y, Suzuki T, Horai Y, Nakajima H, Kawashiri SY, Iwamoto N, Tamai M, Nakamura H, Origuchi T, Motomura M, Kawakami A. Distinguishing the cerebrospinal fluid cytokine profile in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus from other autoimmune neurological diseases. *Clin Immunol.* (査読有) 2015 Apr;157(2):114-20. doi: 10.1016/j.clim.2015.01.010.
 8. Ohyama K, Baba M, Tamai M, Aibara N, Ichinose K, Kishikawa N, Kawakami A, Kuroda N. Proteomic profiling of antigens in circulating immune complexes associated with each of seven autoimmune diseases. *Clin Biochem.* (査読有) 2015 Feb;48(3):181-5. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.11.008.
 9. 一瀬 邦弘,古賀 智裕,川上 純【キナーゼ阻害によるリウマチ性疾患の治療-現在と未来-】CaMKIV 分子リウマチ治療(査読無)7 巻 4 号,2014, Page211-215
 10. 一瀬 邦弘,川上 純【最新関節リウマチ学-寛解-治癒を目指した研究と最新治療-】関節リウマチの発症要因と発症メカニズム 発症メカニズム Th17 細胞,日本臨床(査読無)72 巻増刊 3,2014, 最新関節リウマチ学 Page53-58
- [学会発表](計 12 件)
1. Kunihiro Ichinose, Takeshi Ushigusa, Atsushi Kawakami Evaluation of Soluble α -Klotho in Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus The 60th Annual General Assembly and Scientific Meeting of the Japan Collage of Rheumatology 2016 年 4 月 21 日 ~ 2016 年 4 月 24 日(パシフィコ横浜・神奈川県・横浜市)
 2. Kunihiro Ichinose, Kaname Ohyama, Atsushi Kawakami Anti-Suprabasin Antibody: Identification of a Novel Antibody for neuropsychiatric systemic lupus erythematosus The 60th Annual General Assembly and Scientific Meeting of the Japan Collage of Rheumatology 2016 年 4 月 21 日 ~ 2016 年 4 月 24 日(パシフィコ横浜・神奈川県・横浜市)
 3. 一瀬邦弘,牛草健,佐藤俊太郎,中嶋秀樹,本村政勝,川上純 2015 年 11 月 21 日 ~ 2015 年 11 月 22 日可溶性 α -Klotho の NPSLE における意義についての検討 第 30 回日本臨床リウマチ学会(神戸国際会議場・兵庫県・神戸市)
 4. Kunihiro Ichinose, Takeshi Ushigusa, Masataka Umeda, Tomohiro Koga, Atsushi Kawakami and Shuntaro Sato Evaluation of Soluble α -Klotho in Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus The ACR/ARHP 2013 Annual Meeting 2015 年 11 月 6 日 ~ 2015 年 11 月 11 日(San Francisco, CA, USA)
 5. 一瀬邦弘,牛草健,佐藤俊太郎,中嶋秀樹,本村政勝,川上純老化抑制遺伝子 α -Klotho の中枢神経ループスにおける発現の検討 2015 年 10 月 22 日 ~ 2015 年 10 月 24 日 第 43 回日本臨床免疫学会(神戸国際会議場・兵庫県・神戸市)
 6. 一瀬邦弘,有馬和彦,梅田雅孝,福井翔一,西野文子,中島好一,鈴木貴久,寶來吉朗,古賀智裕,川尻真也,岩本直樹,平井康子,玉井慎美,中村英樹,折口智樹,川上純 マルチプレックスアッセイを用いた中枢神経ループスの治療反応予測因子の検討第 59 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2015 年 4 月 25 日 ~ 2015 年 4 月 25 日(名古屋国際会議場・愛知県・名古屋市)
 7. Kunihiro Ichinose,Takeshi Ushigusa, Yoshikazu Nakashima,Takahisa Suzuki, Yoshiro Horai, Shin-ya Kawashiri, Naoki Iwamoto, Mami Tamai, Kazuhiko Arima, Hideki Nakamura, Tomoki Origuchi and Atsushi Kawakami, Predictors of Therapeutic Outcomes in Patients with Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus The ACR/ARHP 2013 Annual Meeting 2014 年 11 月 14 日 ~ 2014 年 11 月 19 日(Boston, MA, USA)
 8. 一瀬邦弘,古賀智裕,川上純 全身性エリテマトーデスにおける Calcium/Calmodulin-dependent protein Kinase type IV の役割 2014 年 9 月 25 日 ~ 2014 年 9 月 27 日 第 42 回日本臨床免疫

- 学会(京王プラザホテル・東京都・新宿区)
9. 一瀬邦弘, 牛草健, 川上純 ループス腎炎における CD86 を介した Calcium/calmodulin dependent kinase protein type IV の podocyte 機能に対する影響 57 回日本腎臓学会学術総会 2014 年 7 月 4 日~2014 年 7 月 6 日(パシフィコ横浜・神奈川県・横浜市)
 10. Kunihiro Ichinose, Takeshi Ushigusa, Tomohiro Koga, George C.Tsokos, Atsushi Kawakami, Role of calcium/calmodulin kinase IV on podocyte function in lupus nephritis European League Against Rheumatism (EULAR) Congress 2014 2014 年 6 月 11 日~2014 年 6 月 14 日(Paris, France)
 11. 一瀬邦弘, 牛草健, 梅田雅孝, 中島好一, 鈴木貴久, 寶來吉朗, 岡田覚丈, 川尻真也, 岩本直樹, 玉井慎美, 中村英樹, 折口智樹, 川上純 ループス腎炎における Calcium/calmodulin dependent kinase protein type IV のポドサイト機能に対する影響(第 2 報)第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2014 年 4 月 25 日~2014 年 4 月 27 日(グランドプリンス新高輪本館及び国際館パミール・東京都・品川区)
 12. 一瀬邦弘, 牛草健, 高谷亜由子, 西野文子, 中島好一, 鈴木貴久, 寶來吉朗, 川尻真也, 岩本直樹, 有馬和彦, 玉井慎美, 中村英樹, 折口智樹, 川上純 当院における中枢神経ループスの治療反応因子の検討 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2014 年 4 月 25 日~2014 年 4 月 27 日(グランドプリンス新高輪本館及び国際館パミール・東京都・品川区)

〔図書〕(計 2 件)

1. 一瀬邦弘, 荒牧俊幸, 川上純, 東京医学社, 新膠原病・血管炎の腎障害 4. 関節リウマチ, 関節リウマチの腎障害: 治療が関節リウマチの腎障害を変える, 2016, p126-p135
2. 一瀬邦弘, 川上純, 日本医学出版, 治療薬 NAVI シリーズ Vol.1 関節リウマチ治療における生物学的製剤の選択と適正使用 第 2 章関節リウマチ治療における各種生物学的製剤の基礎知識 1. インフリキシマブ, 2015, p32-p38

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:
 番号:
 出願年月日:
 国内外の別:

○取得状況(計 0 件)

名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:
 番号:
 取得年月日:
 国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.nagasaki-u.ac.jp/intmed-1/group/rheuma.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

一瀬 邦弘 (ICHINOSE, Kunihiro)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・講師

研究者番号: 60437895