

## 糸球体硬化症

glomerular sclerosis

市川 家國 (ICHIKAWA IEKUNI)

東海大学・医学部・教授



### 研究の概要

ポドサイト傷害に起因し、自動拡大する慢性腎疾患の治療を目標として研究を行った。通常増殖しないポドサイトの数を増加させる事に成功した。また、メガリンの阻害により二次性尿細管傷害の防止が可能である事を示し、さらにアンジオテンシン II の阻害によりポドサイト傷害が軽減される機序を明らかにし、その産生経路を明らかにした。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：ポドサイト、慢性腎不全、細胞周期、レニン・アンジオテンシン

### 1. 研究開始当初の背景

国民健康上の大きな問題である慢性腎不全は、糸球体硬化症を特徴とする。我々および他の研究者の研究により、糸球体硬化症はポドサイトという糸球体の細胞の傷害を原因とする事が明らかになった。ポドサイトとは、たこ足細胞の別名が示すごとく、多数の突起をもち、それらの突起は糸球体毛細血管の表面を被って、濾過の障壁として機能する。ポドサイトは、生後に増殖する事無く、したがって一度失われると新たに補充される事がない。またポドサイトに始まった傷害は、他の糸球体細胞、および糸球体外に自動拡大するという性質を持っている。これらのポドサイトの性質が、慢性腎不全が治らない最大の要因となっていると考えられている。アンジオテンシン II の阻害剤が不十分ながら慢性腎不全の進行を遅らせるが、それ以上の有効な治療法は存在しない。

### 2. 研究の目的

ポドサイトの傷害に起因する糸球体硬化症の治療をめざし、以下を主な目的として、研究を行った。

① 本来増殖不可能なポドサイトを、生体内で増殖させる事ができるモデルマウスを作製する。それを用いて、正常なポドサイトを増加させる事ができるかどうかを検討する。これらは、ポドサイトの数を増加させる事により、慢性腎不全の治療をめざす、夢の根本的治療法の第一歩である。

② ポドサイト傷害時に、多量の大分子血漿蛋白質が尿に漏出し、引き続いて尿細管傷害が起こる。大分子蛋白質の尿細管細胞への再吸収を阻止する事により、二次性尿細管傷害を防止可能かどうか検証する。

③ 我々の開発したポドサイト傷害モデル (NEP25) マウスに AT1 阻害剤を投与すると、劇的に糸球体硬化症が軽減した。この機序を明らかにする。

④ アンジオテンシン II の腎臓内での産生機序を明らかにする。

### 3. 研究の方法

① Cyclin kinase inhibitor p21 の欠失、SV40 T 抗原の発現、BMP4 の過剰発現のいずれかの状態を示すマウスを作成し、ポドサイトの増殖を起こす事を試みる。申請時に知られていたポドサイトの増殖をきたす状態は、常に激しい傷害を伴うので、傷害を起こさずにポドサイトを増殖させる方法を模索する。

② 尿細管で蛋白質再吸収に関与するメガリンを欠失させたマウスを作製し、ポドサイト傷害を誘導し、メガリン欠失尿細管が、傷害から保護されるか否か解析する。

③ ポドサイトで特異的にアンジオテンシン II の受容体(AT1)を欠損するマウスを作製し、それにポドサイト傷害を誘導し、AT1 ノックアウト(KO)ポドサイトが傷害から保護されるか否か検証する。

④ アンジオテンシン II の前駆蛋白質であるアンジオテンシノゲンの遺伝子を、尿細管特異的、あるいは肝臓特異的に欠損したマ

ウスを作製し、それぞれの部位由来のアンジオテンシン II の意義をあきらかにする。

#### 4. 研究の主な成果

1-1. p21 KO マウスに腎炎を誘発した。あたかもポドサイトが増殖したかのような虚脱型腎症を示した。ポドサイトを遺伝的に標識すると、増殖細胞はポドサイト由来ではなく、ポーマン囊上皮由来である事が判明した。

1-2. BMP4 をポドサイトで過剰発現するマウスを作製した。研究開始時の予想とは異なり、ポドサイトの数は変わらなかった。しかし、この研究から BMP の精緻な発現調節が、正常な糸球体の形成に必須であり、それには VEGF が関与する事がわかった。

1-3. 上記 2 つの研究は、それ自体重要で興味深い結果を得たが、本来のポドサイトを増やすという目的に適うものではなかった。

それらと平行して、ドキシサイクリン (DOX) 投与時のみ、ポドサイト特異的に SV40T を発現するマウス (SV40T/rtTA) を開発した。このマウスに DOX を投与すると、ポドサイトが増殖した。短期間の DOX 投与では、ポドサイトは正常であったが、2 週間以上の DOX 投与によりポドサイトは傷害された。

短期間の DOX 投与を完結的に繰り返す事により、正常なポドサイトの数を約 10% 増加させる事ができた。

2. 尿細管特異的メガリン KO マウスとポドサイト傷害モデルマウス (NEP25) を用いた研究の結果、ポドサイト傷害時に尿細管腔に多量の漏出する大分子血漿蛋白質は、メガリンを介して、近位尿細管に取りこまれ、それが二次性尿細管傷害の原因になる事を明らかにした。

3. ポドサイト特異的 AT1 ノックアウトマウスの作製に成功した。これに NEP25 マウスを交配して、ポドサイト傷害を誘導した。ポドサイト傷害の程度は、ポドサイトの AT1 の有無に無関係であった。この事は、AT1 阻害剤はポドサイト以外の細胞に作用して、ポドサイトを保護する事を示している。

4. 腎臓特異的および肝臓特異的アンジオテンシノゲン欠損マウスの解析の結果、腎臓内アンジオテンシノゲン蛋白質は、もっぱら肝臓に起源し、糸球体で濾過され、尿細管に再吸収される事がわかった。流血中のアンジオテンシン II が主にレニン活性により調節されるのに対して、腎臓内アンジオテン

シン II は、尿腔内に供給されるアンジオテンシノゲン蛋白質量に依存し、糸球体のバリア能力の影響をうける事が示された。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

1-1、1-2 は腎臓研究分野で高く評価された。1-1 は定説と異なるので、この真実が一般化するのには、総説発表などの努力が必要である。

1-3 と 3 に関しては、学会で注目をあび、高く評価されたが、論文が未発表なので、評価はこれからである。

4 は、レニン・アンジオテンシン系の根底に関わる重要なデータを得ているが、研究が未完である。

#### 6. 主な発表論文

(1-3、3、4 の論文は完結していない)

- ① Suzuki T, Matsusaka T, Nakayama M, Asano T, Watanabe T, **Ichikawa I**, Nagata M. Genetic Podocyte Lineage Reveals Progressive Podocytopenia with Prietal Cell Hyperplasia in a Murine Model of Cellular/Collapsing Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Am J Pathol.* 2009;174(5):(in press)
- ② Motoyoshi Y, Matsusaka T, Saito A, Pastan I, Willnow TE, Mizutani S, **Ichikawa I**. Megalin contributes to the early injury of proximal tubule cells during nonselective proteinuria. *Kidney Int.* 2008;74(10):1262-1269.
- ③ Ueda H, Miyazaki Y, Matsusaka T, Utsunomiya Y, Kawamura T, Hosoya T, **Ichikawa I**. Bmp in podocytes is essential for normal glomerular capillary formation. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19(4):685-694.
- ④ Matsusaka T, Xin J, Niwa S, Kobayashi K, Akatsuka A, Hashizume H, Wang QC, Pastan I, Fogo AB, **Ichikawa I**. Genetic engineering of glomerular sclerosis in the mouse via control of onset and severity of podocyte-specific injury. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(4): 1013-1023.
- ⑤ Asano T, Niimura F, Pastan I, Fogo AB, **Ichikawa I**, Matsusaka T. Permanent genetic tagging of podocytes: fate of injured podocytes in a mouse model of glomerular sclerosis. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(8): 2257-2262.