

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成25年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	慢性腎臓病の線維化、ホルモン分泌、再生を担う細胞群の同定とその制御法の開発
研究機関・部局・職名	京都大学・医学部附属病院・教授
氏名	柳田素子

1. 当該年度の研究目的

本申請課題では、腎臓の線維化、ホルモン分泌、再生、発生を担う各細胞群を同定し、その制御機構を明らかにすることによって、慢性腎臓病の線維化、最大の合併症である腎性貧血、尿細管の再生に関する治療法開発への一助とすることを目標とする。

【テーマ1: 腎臓の線維化を担う細胞の同定・単離とその制御機構の解明】

【テーマ2: 腎臓で作られるホルモン、エリスロポエチン産生細胞の同定・単離と腎性貧血の病態解明】

申請者は、前年度までに、腎臓の皮質と髄質外層の線維芽細胞の約 98%が神経堤由来であること、この神経堤由来細胞が胎生期 13.5 日目に腎臓に移入し、線維芽細胞と EPO 産生細胞へと分化すること、この神経堤由来細胞が形質転換を起こし、EPO 産生能を失うとともに、細胞外マトリックスを産生して線維化を悪化させる「悪玉線維芽細胞」になることが腎性貧血と線維化の原因であることを見出した(J Clin Invest 2011)。

前年度は、この結果をふまえて、悪玉線維芽細胞をもとの健康な線維芽細胞へ回復させる薬剤のスクリーニングを行い、エストロゲン受容体調節薬(SERM)が有望であることを見いだした。25年度はSERMの薬効が、エストロゲン受容体のいずれを介したものであるのか明らかにするとともにその下流シグナルを同定し、その薬効メカニズムの本体を明らかにする。さらに申請者は線維芽細胞の形質転換のきっかけとして、尿細管上皮とのクロストークに注目している。細胞特異的なジフテリア毒素受容体発現マウスを用いてそのクロストークを遮断した際のそれぞれの細胞のふるまいを明らかにするとともに、そのクロストーク分子の同定を試みる予定である。

【テーマ3: 尿細管の自己再生能を証明し、その再生制御機構を解明する】

申請者は前年度までに、腎障害に最も弱い近位尿細管に特異的なNdr1CreERT2 mouseとCre存在下で標識蛋白を発現するindicator mouseを用いて、1回の虚血再還流からは近位尿細管は回復可能であることを見いだした。申請者は複数回の虚血再還流からの回復モデルを確立しており、同モデルにおいても近位尿細管が自力で回復できるのか、その限界を検証したい。

【テーマ4: 発生段階における腎幹細胞プール維持機構の解明】

既に予定された研究を終了し、論文が受理された。

2. 研究の実施状況

【テーマ1:腎臓の線維化を担う細胞の同定・単離とその制御機構の解明】

【テーマ2:腎臓で作られるホルモン、エリスロポエチン産生細胞の同定・単離と腎性貧血の病態解明】

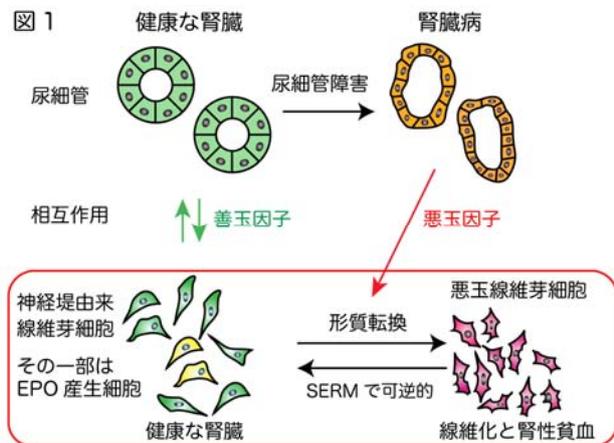
(1) 形質転換を回復させるエストロゲン受容体の同定

申請者は、エストロゲン受容体調節薬(SERM)が線維芽細胞の形質転換を回復させることを明らかにするとともに、その作用を介する受容体を特定した(未発表データ:投稿準備中)。同受容体作動薬は、線維化を解消し、腎性貧血を回復させる可能性がある。

(2) 形質転換のきっかけは尿細管障害である:尿細管・線維芽細胞クロストークの同定

次に申請者は、自ら作成した近位尿細管特異的誘導型 Cre マウスと、Cre 存在下でジフテリア毒素受容体を発現する iDTR マウスを用いて、近位尿細管の選択的障害を惹起することを可能にし、それに伴って線維芽細胞が「悪玉線維芽細胞」へと形質転換することを見出した(図1赤矢印、未発表データ:投稿準備中)。

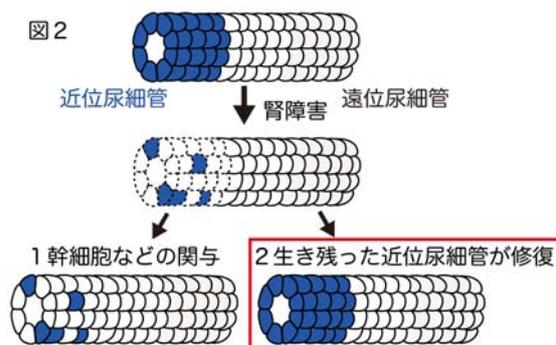
次に線維芽細胞と障害尿細管細胞の共培養系を確立し、液性因子を介して線維芽細胞の形質転換が誘導されることを証明した。



【テーマ3:尿細管の自己再生能の証明およびその調節機構の解明】

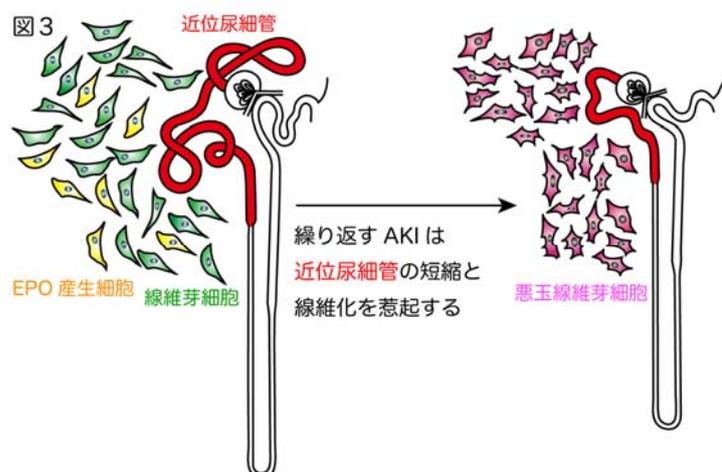
(1) 近位尿細管は急性腎障害後に増殖能を獲得し、自らを修復する

申請者は前述の近位尿細管特異的誘導型 Cre と、Cre 存在下で蛍光蛋白を発現する indicator マウスを用いて、近位尿細管が障害後に脱分化し、増殖能を獲得すること、さらには修復後に標識が希釈していないことから、修復を担うのは、主として生き残った近位尿細管であることを見出した(図2 赤枠)。



(2) 近位尿細管の修復能には限界があり、繰り返す障害は尿細管の短縮と線維化を来す

さらに申請者は、繰り返す急性腎障害から回復した腎臓は萎縮しており、近位尿細管が短縮していること、近位尿細管周囲の線維芽細胞が「悪玉線維芽細胞」へと形質転換することを見出した(図3:投稿中)。このデータは近位尿細管修復能の限界を示すものであり、急性腎障害後の腎臓の予備能低下を説明するものである。



3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 18 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Sachiko Yamada, Jin Nakamura, Misako Asada, Masayuki Takase, Taiji Matsusaka, Taku Iguchi, Ryo Yamada, Mari Tanaka, Atsuko Y Higashi, Tomohiko Okuda, Nariaki Asada, Atsushi Fukatsu, Hiroshi Kawachi, Daniel Graf, Eri Muso, Toru Kita, Takeshi Kimura, Ira Pastan, Aris N. Economides, and <u>Motoko Yanagita</u> “Twisted Gastrulation, a BMP antagonist, exacerbates podocyte injury” Plos One 9(2):e89135, 2014. 2. Ryuichi Uetake, Takayuki Sakurai, Akiko Kamiyoshi, Yuka Ichikawa-Shindo, Hisaka Kawate, Yasuhiro Iesato, Takahiro Yoshizawa, Teruhide Koyama, Lei Yang, Yuichi Toriyama, Akihiro Yamauchi, Kyoko Igarashi, Megumu Tanaka, Takashige Kuwabara, Kiyoshi Mori, <u>Motoko Yanagita</u>, Masashi Mukoyama, Takayuki Shindo “Adrenomedullin-RAMP2 System Suppresses ER Stress-Induced Tubule Cell Death and Is Involved in Kidney” Plos One 9(2):e87667, 2014 3. Mayumi Tomita, Misako Asada, Nariaki Asada, Jin Nakamura, Akiko Oguchi, Atsuko Y Higashi, Shuichiro Endo, Elizabeth Robertson, Takeshi Kimura, Toru Kita, Aris N. Economides, Jordan Kreidberg, and <u>Motoko Yanagita</u> “Bmp7 maintains undifferentiated kidney progenitor population and determines nephron numbers at birth” Plos One 8(8):e73554, 2013. 4. Yuichirou Kitai, Neiko Ozasa, Takeshi Morimoto, Bingyuan Bao, Yutaka Furukawa, Yoshihisa Nakagawa, Kazushige Kadota, <u>Motoko Yanagita</u>, Satoshi Shizuta, Takeshi Kimura “Prognostic Implications of Anemia With or Without Chronic Kidney Disease in Patients Undergoing Elective Percutaneous Coronary Intervention” International Journal of Cardiology 168(6):5221-8, 2013 5. Koji Takaori, <u>Motoko Yanagita</u> “Kidney regeneration and stem cells” The Anatomical Record 297:129-136, 2014. 6. Yuki Sato, <u>Motoko Yanagita</u> “Renal anemia: from incurable to curable” American Journal of Physiology 305:F1239-F1248, 2013 7. Kenta Iijima, Noriyuki Okudaira, Masato Tamura, Akihiro Doi, Yoshikazu Saito, Mari Shimura, Motohito Goto, Akihiro Matsunaga, Yuki I Kawamura, Takeshi Otsubo, Taeko Dohi, Shigeki Hoshino, Shigeyuki Kano, Shotaro Hagiwara, Junko Tanuma, Hiroyuki Gatanaga, Masanori Baba, Taku Iguchi, <u>Motoko Yanagita</u>, Shin-ichi Oka, Tadashi Okamura, Yukihiro Ishizaka “Viral protein R of human immunodeficiency virus type-1 induces retrotransposition of long interspersed element-1” Retrovirology 10:83(1-16), 2013 <p>(掲載済み一査読無し) 計 9 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 佐藤有紀、<u>柳田素子</u>【保存期腎性貧血の病態と治療-温故知新-】腎性貧血と腎機能低下はどこまで治るのか、腎と透析、2014、Vol.76(2), 252-255. 2. 森潔、桑原孝成、横井秀基、笠原正登、向山政志、<u>柳田素子</u>【注目される腎臓病と最新のバイオマーカー動向】急性腎障害のバイオマーカー動向、臨床化学、2014、Vol.43(1), 5-8. 3. 中田紘介、<u>柳田素子</u>「医学と医療の最前線 腎疾患と EPO 産生細胞」日本内科学会雑誌、2014、Vol.103(1), 160-165. 4. <u>柳田素子</u>「腎臓内科医が腎臓病と透析の患者さんにできること」日本透析医会雑誌、2013、Vol.28(2), 315. 5. 佐藤有紀、<u>柳田素子</u>【腎性貧血-概念の進歩と治療への期待】CKDにおける貧血と臓器保護、腎と透析、2013、Vol.75(3), 319-322. 6. <u>柳田素子</u>「腎性貧血を標的とした新しい創薬に向けて 線維化と腎性貧血を繋ぐ病態の解明」日本透析医学会雑誌、2013、Vol.46(Suppl.1), 366. 7. 高瀬昌幸、<u>柳田素子</u>【CKD 診療の進歩】腎線維化の分子機構、BIO Clinica、2013、Vol.28(8), 721-725.
------------------------	---

様式19 別紙1

	<p>8. 佐藤有紀、柳田素子【腎臓病の up to date-病態に基づいた治療の最前線】腎臓病の病態 腎線維化、カレントセラピー、2013、Vol.31(6), 566-570.</p> <p>9. 高瀬昌幸、浅田礼光、中村仁、小口綾貴子、浅田三咲子、鈴木教郎、山村研一、名越慈人、芝田晋介、Rao Tata Nageswara、Fehling Hans Joerg、深津敦司、峯岸直子、北徹、木村剛、岡野栄之、山本雅之、柳田素子「慢性腎臓病における線維化と腎性貧血を担う細胞の同定およびその制御法の開発」Pharma Medica、2013、Vol.31(5), 90-92.</p> <p>(未掲載) 計 2 件</p> <p>1. Matthias Mack, <u>Motoko Yanagita</u> “Origin of myofibroblasts and cellular events triggering fibrosis” Kidney International in press</p> <p>2. Hideki Yokoi and <u>Motoko Yanagita</u> “Decrease of muscle volume in chronic kidney disease: the role of mitochondria in skeletal muscle” Kidney International in press</p>
<p>会議発表 計 14 件</p>	<p>専門家向け 計 14 件 アメリカ腎臓学会総会、アトランタ(米国)、11/5-11/10、2013、アメリカ腎臓学会</p> <p>1. <u>Motoko Yanagita</u>, Tomomi Endo, Tomohiko Okuda, Jin Nakamura, Misako Asada, Masayuki Takase, Ryo Yamada, Sato Yuki, Koji Takaori, Akiko Oguchi, Taku Iguchi, Eri Muso:Exploring the Origin and Limitation of Kidney Regeneration.</p> <p>2. Jin Nakamura, Akiko Oguchi, <u>Motoko Yanagita</u>:Exploring the Function of Renal Fibroblasts of Extra-Renal Origin.</p> <p>3. Misako Asada, <u>Motoko Yanagita</u>:Kidney-Brain Crosstalk during Sepsis.</p> <p>4. <u>Motoko Yanagita</u>, Mayumi Tomita, Misako Asada, Nariaki Asada, Jin Nakamura, Akiko Oguchi, Atsuko Y.Higashi, Shuichiro Endo, Aris N. Economides.:Bmp7 Maintains Undifferentiated Kidney Progenitor Population and Determines Nephron Numbers at Birth.</p> <p>5. Tatsuo Tsukamoto, Makoto Araki, Takeshi Matsubara, <u>Motoko Yanagita</u>:Cancer Treatment for Patients under Dialysis Therapy; Single Center Surveillance. 福岡県透析医学会学術集会、福岡大学メディカルホール(福岡)、10/27、2013 福岡県透析医学会</p> <p>6. 柳田素子、「腎臓内科医が腎臓病と透析の患者さんにできること」 第 58 回日本透析医学会学術集会・総会、福岡国際会議場(福岡)、6/20-23,2013、日本透析医学会</p> <p>7. 柳田素子、シンポジウム 10：腎性貧血を標的とした新しい創薬に向けて、演題名「線維化と腎性貧血を繋ぐ病態の解明」</p> <p>8. 柳田素子、ランチョンセミナー45：「線維化と腎性貧血はどこまで治るのか」 第 56 回日本腎臓学会学術総会、東京国際フォーラム(東京)、5/10-5/12、2013、日本腎臓学会</p> <p>9. 柳田素子、ランチョンセミナー3：「腎臓構成細胞を制御する治療戦略」</p> <p>10. 中村仁、小口綾貴子、内野詠一郎、土田潤一、井口卓、山本格、柳田素子、口頭発表「慢性腎臓病における腎性貧血および線維化を担う神経堤由来線維芽細胞の機能解析」</p> <p>11. 高折光司、中村仁、山本格、柳田素子、口頭発表「誘導性ジフテリア毒素受容体発現マウスを用いた尿細管・間質クロストークの検討」</p> <p>12. 高瀬昌幸、柳田素子、ポスター発表「慢性腎臓病におけるエストロゲン受容体の役割の検討」</p> <p>13. 浅田三咲子、柳田素子、ポスター発表「慢性腎臓病における脳腎連関」 第 50 回日本臨床分子医学会講演会、東京国際フォーラム(東京)、4/12-13、2013、日本臨床分子医学会</p> <p>14. 柳田素子、スポンサード・シンポジウム 2「低酸素と酸化ストレスの分子医学」演題「低酸素が引き起こす Fibroblast 病としての腎線維化と腎性貧血」</p>
<p>図書 計 1 件</p>	<p>編集主幹：井村裕夫、わかりやすい内科学、文光堂、2014 年、第 4 版、全 970 ページ、ISBN978-4-8306-20300、 担当：第 10 章 腎・尿路疾患、水・電解質異常</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件</p>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	京都大学医学部附属病院腎臓内科 http://www.kidney.kuhp.kyoto-u.ac.jp/
国民との科 学・技術対話 の実施状況	「京都大学アカデミックデイ 2013-京都大学の研究者とあなたで語り合う日-」 実施日：平成25年12月21日（土） 場所(施設名)：京都大学百周年時計台記念館 対象者：広く一般国民 参加者数：529名（1日の延べ来場者数） 内容：市民や研究者、文系、理系を問わず、誰もが学問の楽しさ・魅力に気付くことができる「対話」の場となることを目指している。国民と科学・技術に関わる本学の研究者が直接対話することで、本学の研究活動をわかりやすく説明するとともに、国民の声を本学における研究活動に反映させることを1つの目的としている。
新聞・一般雑 誌等掲載 計5件	<p>【新聞】</p> <p>1. 平成25年12月14日（土）京都新聞 朝刊5面 「毎日血圧 時々 尿検査 ～早期発見で慢性腎臓病を予防しよう～」 京都府立医科大学大学院医学研究科 内分泌・代謝内科学 教授 中村 直登先生との対談</p> <p>2. 平成25年12月12日（木）産経新聞 朝刊24面 「そうだ、医学部にいこう」 洛北高校『洛北ヒポクラテス倶楽部』にて講義</p> <p>【雑誌】</p> <p>3. 平成25年9月発刊 病院新時代66 糖尿病特別号2ページ 「特集 京都大学医学部附属病院 新しい制度のもと、透析予防診療チームを立ち上げ患者のQOLを守るー糖尿病透析予防指導管理料創設に対応した積極的な取り組みー」 本学 糖尿病・内分泌・栄養内科 教授 稲垣 暢也先生との対談、田辺三菱製薬 関連</p> <p>4. 平成25年9月号 日経サイエンス 8ページ「Front Runner 挑む」慢性腎臓病を治る病気に 【web版】</p> <p>5. 平成25年9月号 日経サイエンス「Front Runner 挑む」慢性腎臓病を治る病気に http://www.nikkei-science.com/201309_008.html</p>
その他	<p>【京大内の掲載物】</p> <p>平成25年9月号</p> <p>Kyoto University Research Activities vol.3.no.2</p> <p>16ページ「Research Activities 2013」</p> <p>27ページ「RESEARCH FRONTIERS」</p>

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	122,000,000	98,950,000	23,050,000	0	0
間接経費	36,600,000	29,685,000	6,915,000	0	0
合計	158,600,000	128,635,000	29,965,000	0	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	-2,008,856	23,050,000	0	21,041,144	21,034,007	7,137	0
間接経費	23,747,197	6,915,000	0	30,662,197	30,662,197	0	0
合計	21,738,341	29,965,000	0	51,703,341	51,696,204	7,137	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	15,998,803	高性能クリオスタット、マウス、試薬等
旅費	762,540	研究成果発表旅費(アメリカ腎臓学会Kidney Week2013)
謝金・人件費等	2,061,048	実験補助人件費
その他	2,211,616	組織検査料、英文校正等
直接経費計	21,034,007	
間接経費計	30,662,197	
合計	51,696,204	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
リサーチ用高性能 クリオスタット	独国ライカ バイ オシステムズ・ヌ スロフGmbH社 製CM3050S(I V)	1	4,987,500	4,987,500	2013/9/9	京都大学
				0		
				0		