

# メサンギウム細胞合胞体の機能解析から 糸球体硬化進展機構解明への展開

課題番号：15390266

平成15年度～平成17年度科学研究費補助金  
(基盤研究(B))研究成果報告書

平成17年3月

新潟大学附属図書館



2060005964

研究代表者 追手 巍

新潟大学医歯学系教授

W20.5  
Mo 31  
2009-105

## はしがき

腎臓病学における最大のテーマは、腎死に到る糸球体硬化への進行を阻止する事であり、硬化糸球体を正常糸球体へ修復する事である。長い基礎・臨床研究にも関わらず血液透析治療を必要とする腎不全患者数は毎年、確実に1万人ずつ増加し、現在全国で約25万人に達している。この事は、これまで有効な治療法が確立していない事を示唆している。糸球体硬化への進行阻止を狙った研究が成果を上げていない理由として、腎糸球体は尿細管と微小動脈が接合した特異な小器官であり、流量、流圧、ずり応力の負荷がかかる動脈系における障害と言う観点からの病態解析が不充分であったことが挙げられる。この事を踏まえて、平成15年度～平成17年度科学研究費補助金基盤研究(B)、課題名「メサンギウム細胞合胞体の機能解析から糸球体硬化進展機構解明への展開」が展開されてきた。以下、その概略を述べ、更に具体的な研究成果(論文、学会発表等)を提示する。

1. 私どもが明らかにしてきた培養ラット・メサンギウム細胞のギャップ結合蛋白、コネキシン43の機能・シグナル伝達機構(*Kidney Int* 57:1915, 2000., *J Am Soc Nephrol* 13:2018, 2002) についての研究を進展させ、血管内皮細胞との混合培養系、単離糸球体, 単離腎, 生体腎においてコネキシン43を中心にしたギャップ結合蛋白が機能蛋白として存在し、糸球体メサンギウム細胞が合胞体として糸球体微小循環系調節に関わる機能を果たしている事を支持する一連の論文を発表した(論文13, 15, 国際学会2, 8, 9, 国内学会1, 6, 8, 15)。

これと関連して傍糸球体装置にあるレニン産生細胞(顆粒細胞)の協調したレニン産生機構にはギャップ結合よりはATPを介するシグナル伝達機構が重要であることを培養系及び単離腎かん流系で明らかにした(論文4)。

2. 糸球体 endocapillary における細胞-細胞、細胞-細胞外基質の生理的・物理的相互作用の破綻がメサンギウム細胞の合胞体として機能障害を引き起こし、存在する糸球体病変を進行させ、最終的には糸球体硬化病変形成に到るという作業仮説を立てるに至った(論文2, 12)。

3. 糸球体内皮細胞を用いて、高糖下での一酸化窒素(NO)の産生能について検討し、NOSの産生増加が認められるものの最終的なNO産生量は低下していることから、super oxide 産生亢進によるNOSのavailability低下が

内皮細胞障害をもたらす機序として想定された（論文 5）。

4. 均一なヒト腎糸球体内皮細胞を得る目的で SV-40 による同細胞の不死化細胞株を樹立し、その細胞の性格づけ、抗内皮細胞抗体価測定用の標準細胞としての価値について明らかにした（論文 9）。
5. 腎不全に至る進行性糸球体硬化症を惹起する抗 Thy-1.1 単クローン抗体の対応エピトープを決定し、このエピトープが Ca<sup>++</sup>シグナリング、メサンギウム細胞-内皮細胞間の接着に關与する機能エピトープとして存在することを明らかにした（論文 8、国際学会 1、国内学会 13）。
6. 生体内の微小循環動態の実時間画像撮影法 (*Kidney Int* 59:252, 2001) を用い、各種実験モデルの腎糸球体微小循環解析を進めた。片腎抗 Thy-1 腎炎 (*Kidney Int* 61:432, 2001) を Munich Wistar Rat に惹起し、可逆性 Thy-1 腎炎との比較から、糸球体内血流の異常（乱流）が病變の不可逆性進行に大きく關連していて、可逆性-不可逆性の分岐点（期間）を同定することができた。このことは腎保護作用のある薬剤投与の投与時期、薬剤効果を判定し、糸球体病變進行度の判定をする上で意義ある研究成果と言える（論文 3, 6, 7, 16、国際学会 3, 4, 5, 6, 7, 11、国内学会 3, 5, 9, 11, 14）。
7. 進行性腎糸球体硬化症（腎不全に至るモデル）を EGFP-transgenic rat: EGFP(-) rat に EGFP(+) rat の骨髓細胞を移植したキメララットに惹起する。その結果、従来から言われていたメサンギウム細胞だけでなく、糸球体内皮細胞も骨髓由来血管内皮前駆細胞により修復されていることが判明した（論文 10,11、国内学会 2,5,9,10）。また、このモデルに骨髓細胞を注入治療すると、腎不全死を著明に抑制し、腎炎進行を明らかに軽減させることが明らかとなった（論文 14、国内学会 16）。

（追加）主に、この科研費を含めた長年の文科省科学研究費補助金支援のお陰で平成 18 年度病理学会総会・宿題報告者（平成 18 年 5 月 1 日、京王プラザ、東京、演題名：糸球体腎炎：発症・進展そして糸球体硬化）に選出、平成 18 年度日本腎臓財団学術賞（研究課題名：腎微小循環解析による糸球体硬化への進展機構解明）を受賞することになった。ここに心からの感謝の意を表したい。

## 研究組織

研究代表者 : 追手 巍 (新潟大学医歯学系教授)  
研究分担者 : 森岡 哲夫 (新潟大学医歯学系助教授)

## 交付決定額 (配分類)

	直接経費	間接経費	(合計単位: 円)
			合計
平成 15 年度	6,700,000	0	6,700,000
平成 16 年度	2,700,000	0	2,700,000
平成 17 年度	2,200,000	0	2,200,000
総 計	11,600,000	0	11,600,000

## 研究発表

### (1) 学会誌等

1. 森岡哲夫、追手 巍. 免疫複合体と腎病変 別冊 医学のあゆみ 腎疾患 - state of arts -, 2003-2005 浅野 泰、小山哲夫 編、医歯薬出版、pp 27-30, 2003.
2. T. Oite, J. Yao, T. Morioka. Disturbance of syncytial cell function in glomerular mesangial cells involved in the progressive glomerular diseases. *Contribution Nephrology* 139:12-19, 2003.
3. 追手 巍. 移植臓器と微小循環 -腎を中心として- 今日の移植 16:117-123, 2003.
4. J. Yao, M. Suwa, B. Li, K. Kawamura, T. Morioka, T. Oite. ATP-dependent mechanisms for coordination of intercellular Ca<sup>2+</sup> signaling and renin secretion in rat juxtaglomerular cells. *Circulation Research* 93:338-345, 2003.

5. M. Hoshiyama, B. Li, T. Harada, J. Yao, T. Morioka, T. Oite. Effect of high glucose on nitric oxide production and eNOS protein expression in human glomerular endothelial cells (HEGECs). *Nephron: Experimental Nephrology* 95:e62-e68, 2003.
6. 田中由紀子、追手 巍. 共焦点レーザー顕微鏡を用いた腎微小循環動態の解析  
新潟医学会雑誌 118(4):201-208, 2004.
7. B.Li, J.Yao, K.Kawamura, Y.Oyanagi-Tanaka, M.Hoshiyama, T.Morioka, F.Gejyo, M.Uchiyama, T.Oite. Real-time observation of renal hemodynamic changes in diabetic rats. Effects of insulin and ARB. *Kidney International* 66:1939-1948, 2004.
8. T. Morioka, J. Yao, Y. Suzuki, T. Oite. The characterization of a specific Thy-1 molecular epitope expressed on rat mesangial cells. *Kidney International* 66:2214-2223, 2004.
9. T. Harada, S. Batsford, T. Morioka, J. Yao, M. Arakawa, F. Gejyo, T. Oite. Establishment of immortalized human glomerular endothelial cell lines. *Nephron: Experimental Nephrology* 99:e38-e45, 2004.
10. K.Ikarashi, B.Li, M.Suwa, K.Kawamura, T.Morioka, J.Yao, F.Khan, M.Uchiyama, T.Oite. Bone marrow cells contribute to regeneration of damaged glomerular endothelial cells. *Kidney International* 67:1925-1933, 2005.
11. 武田 哲、佐藤 啓、菊池珠美、岡田晋一、追手 巍. ATS 腎炎におけるメサンギウム融解後の糸球体再構築  
新潟医学会雑誌 119:199-204, 2005.
12. 追手 巍. 糸球体微小循環の血行動態  
腎と透析 59:787-792, 2005.
13. J.Yao, N.Hiramatsu, Y.Zhu, T.Morioka, M.Takeda, T.Oite, M.Kitamura. Nitric oxide-mediated regulation of connexin43 expression and gap junctional intercellular communication in mesangial cells. *Journal of American Society of Nephrology* 16:58-67, 2005.
14. B.Li, T.Morioka, M.Uchiyama, T.Oite. Bone marrow cell infusion ameliorates progressive glomerulosclerosis in an experimental rat model. *Kidney International* 69:323-330, 2006
15. J.Yao, M.Kitamura, Y.Zhu, Y.Meng, A.Kasai, T.Morioka, M.Takeda, T.Oite. Unexpected cooperation between platelet-derived growth factor-BB and cAMP-elevating agents in the induction of connexin 43 and mesangial cell differentiation.  
*American Journal of Physiology: Renal Physiology* 2006, in press
16. K.Kawamura, S.Okada, B.Li, M.Suwa, J.Yao, T.Morioka, F.Gejyo, T.Oite. Turbulence of glomerular hemodynamics involved in progressive glomerulosclerosis. *Kidney International* 2006, in press

## (2) 口頭発表

### 国際学会

1. T. Morioka, J. Yao, T. Oite. Determination of the specific Thy-1 epitope in rat mesangial cells. 国際腎臓学会 2003, 2003, ベルリン
2. J. Yao, M. Suwa, T. Morioka, B. Li, K. Kawamura, T. Oite. ATP-dependent mechanism for coordination of intercellular calcium signaling and renin secretion in rat juxtaglomerular cells. 国際腎臓学会 2003, 2003, ベルリン
3. K. Kawamura, B. Li, M. Suwa, J. Yao, T. Morioka, F. Gejyo, T. Oite. Real-time observation of hemodynamic changes in glomerular lesions with progressive glomerulosclerosis. 国際腎臓学会 2003, 2003, ベルリン
4. M. Suwa, K. Saito, K. Kawamura, K. Ikarashi, B. Li, J. Yao, T. Morioka, T. Oite. Regeneration of renal microvasculature by bone marrow-derived endothelial cells following ischemia-reperfusion injury (IRI). 第 36 回アメリカ腎臓学会総会、2003 年、サンディエゴ
5. Kawamura K, B. Li, M. Suwa, J. Yao, T. Morioka, T. Oite. Turbulence of glomerular hemodynamics involved in the progressive glomerulosclerosis. 第 36 回アメリカ腎臓学会総会、2003 年、サンディエゴ
6. S. Okada, K. Kawamura, B. Li, F. Khan, J. Mahmood, T. Kikuchi, N. Kumagai, T. Morioka, T. Oite. Angiotensin II receptor blockade affects the glomerular hemodynamics leading to ameliorating the progression of glomerulosclerosis in the rat model. 第 37 回アメリカ腎臓学会総会、2004 年、セントルイス
7. B. Li, Kawamura K, T. Morioka, T. Oite. Real-time observation of glomerular hemodynamic changes in diabetic rats.: Effects of insulin and ARB. 第 37 回アメリカ腎臓学会総会、2004 年、セントルイス
8. J. Yao, M. Kitamura, T. Morioka, T. Oite. Cooperation of platelet-derived growth factor and cAMP-elevating agents in the induction of connexin43 and mesangial cell differentiation. 第 37 回アメリカ腎臓学会総会、2004 年、セントルイス
9. J. Yao, N. Hiramatsu, T. Morioka, T. Oite, M. Kitamura. Nitric oxide enhances mesangial cell connexin43 expression and gap junctional intercellular communication via cGMP-dependent inhibition of phosphodiesterase 3 activity. 第 37 回アメリカ腎臓学会総会、2004 年、セントルイス
10. M. Kadomura, I. Narita, K. Omori, S. Goto, N. Saito, A. Ogawa, F. Sato, J. Ajiro, D. Saga, F. Akiyama, M. Sakatsume, T. Oite, F. Gejyo. Vascular endothelial growth factor gene polymorphism affects on the long-term renal survival in IgA nephropathy. 第 37 回アメリカ

腎臓学会総会、2004年、セントルイス

11. Mahmood, F.Khan, S.Okada, N.Kumagai, T.Morioka, T.Oite. Local delivery of ARB in the kidney ameliorates the experimental progressive glomerulosclerosis. 第38回アメリカ腎臓学会総会、2005年、フィラデルフィア
12. F.Khan, K.Yamakami, J.Mahmood, T.Kikkuchi, B.Li, N.Kumagai, T.Morioka, N.Yoshizawa, T.Oite. Expression profile of cell adhesion molecules on human glomerular endothelial cells in response to nephritis associated plasmin receptor. 38回アメリカ腎臓学会総会、2005年、フィラデルフィア

## 国内学会

1. 姚建、諏訪通博、森岡哲夫、李氷、川村和子、五十嵐宏三、追手 巍 ATP-dependent mechanism for coordination of intercellular  $Ca^{2+}$  wave and rennin secretion in juxtaglomerular cells. 第46回日本腎臓学会学術総会、2003年、東京
2. 五十嵐宏三、森岡哲夫、姚建、川村和子、諏訪通博、Fahima Khan、李氷、内山聖、追手 巍 GFP-transgenic rat を用いた障害糸球体再生過程の解析 第46回日本腎臓学会学術総会、2003年、東京
3. 川村和子、李氷、諏訪通博、姚建、森岡哲夫、下条文武、追手 巍 糸球体硬化病変形成過程における血行動態の観察 第46回日本腎臓学会学術総会、2003年、東京
4. 森岡哲夫、姚建、川村和子、F.Khan、李氷、諏訪通博、五十嵐宏三、追手 巍 メサングウム増殖性腎炎における血管新生因子の動態 第46回日本腎臓学会学術総会、2003年、東京
5. 諏訪通博、斎藤和英、川村和子、李氷、五十嵐宏三、Fahima Khan、姚建、森岡哲夫、高橋公太、追手 巍 腎虚血再かん流障害における微小血管修復機構 第39回日本移植学会総会、2003年、大阪
6. J.Yao, M.Kitamura, Y.Zhu, T.Morioka, T.Oite. PDGF induces connexin43 expression and differentiation of mesangial cells in the presence of cAMP. 第47回日本腎臓学会学術総会、2004年、宇都宮
7. F.Khan, K.Yamakami, B.Li, T.Kikuchi, T.Morioka, N.Yoshizawa, T.Oite. Response of microvascular endothelial cells to streptococcal antigen. 第47回日本腎臓学会学術総会、2004年、宇都宮
8. 岡田晋一、菊池珠美、川村和子、李氷、諏訪通博、F.Khan、森岡哲夫、追手 巍 進行性糸球体硬化モデルにおける connexin40, 43 の発現動態 第47回日本腎臓学会学術総会、2004年、宇都宮

9. 諏訪通博、斎藤和英、川村和子、五十嵐宏三、李氷、Fahima Khan、菊池珠美、岡田晋一、姚建、森岡哲夫、高橋公太、追手 巍 腎虚血再かん流障害の微小血管修復過程における骨髄細胞の役割 第 47 回日本腎臓学会学術総会、2004 年、宇都宮
10. 菊池珠美、岡田晋一、河内裕、追手 巍 ATS 腎炎におけるメサンギウム融解後の糸球体再構築 第 47 回日本腎臓学会学術総会、2004 年、宇都宮
11. 岡田晋一、F. Khan、J. Mahmood、熊谷直樹、森岡哲夫、追手 巍 腎微小循環動態解析法によるアンギオテンシン II 抑制薬の糸球体硬化進行抑制機序の解明 第 48 回日本腎臓学会学術総会、2005 年、横浜
12. 熊谷直樹、斎藤和英、森岡哲夫、追手 巍、高橋公太 Basiliximab (Simulect) を用いた早期ステロイドオフ免疫抑制療法 第 48 回日本腎臓学会学術総会、2005 年、横浜
13. 森岡哲夫、姚建、鈴木康仁、李氷、菊池珠美、岡田晋一、J. Mahmood、F. Khan、熊谷直樹、追手 巍 The characterization of a specific Thy-1 epitope expressed on rat mesangial cells. 第 48 回日本腎臓学会学術総会、2005 年、横浜
14. J. Mahmood, F. Khan, N. Kumagai, T. Morioka, T. Oite. Renal sub-capsular implantation: a novel approach to deliver angiotensin II receptor blockers. 第 48 回日本腎臓学会学術総会、2005 年、横浜
15. J. Yao, N. Hiramatsu, T. Morioka, T. Oite, M. Kitamura. Nitric oxide regulates gap junctional intercellular communication in mesangial cells via cGMP-dependent inhibition of phosphodiesterase 3. 第 48 回日本腎臓学会学術総会、2005 年、横浜
16. F. Khan, B. Li, J. Mahmood, N. Kumagai, T. Morioka, T. Oite. Bone marrow transplantation ameliorated progressive glomerulosclerosis in experimental model. 第 48 回日本腎臓学会学術総会、2005 年、横浜

#### 特別講演

1. 追手 巍 腎微小循環の血行動態解析 第 7 回 ABO 血液型不適合移植研究会、2003 年、大阪
2. 追手 巍 糸球体を中心とした腎微小循環系 第 13 回栃木膠原病と腎カンファレンス、2004 年、宇都宮市
3. 追手 巍 糸球体微小循環系における細胞連関 第 86 回東京腎生理集談会、2004 年、東京
4. 追手 巍 微小循環系から見た糸球体硬化への進展機構 第 48 回日本腎臓学



会学術総会教育講演、2005年、横浜

5. 追手 巍 微小循環系におけるバイオイメーjing研究 東京都神経科学総合研究所神経科学セミナー、2005年、東京
6. 追手 巍 バイオイメーjing・システム導入による腎微小循環解析 第35回日本腎臓学会西部学術大会シンポジウム「機能形態学から腎臓病を探る」、2005年、長崎市
7. 追手 巍 腎糸球体微小循環の病態生理 第16回 Okayama Nephro-Talk、岡山市
8. 追手 巍 糸球体硬化への進行阻止を目指した治療法の開発 第39回埼玉腎臓研究会、2005年、さいたま市

### (3) 出版物

1. 追手 巍 腎臓のバーン・レヴィー基本生理学 板東武彦、小山省三 監訳(分担)、西村書店、新潟、2003年5月
2. 追手 巍 腎の構造と機能 ダイナミックメディスン 第6巻第20章 腎・尿路疾患・水・電解質代謝、下条文武、齋藤 康 監修(分担)、西村書店、新潟、2003年7月