

巣状糸球体硬化症モデルとヒト腎症における 腎細胞障害分子 SM22 α 発現の病理学的意義

王 興 智

新潟大学医歯学総合研究科腎膠原病内科

Histological Identification of SM22 α in Focal Segmental Glomerulosclerosis Model and Human Glomerulonephropathy

Wang XINGZHI

*Division of Clinical Nephrology and Rheumatology Znstitute of Nephrology
Niigata Graduate School of Medical and Dental Sciences*

要 旨

【目的】私たちはラット抗糸球体基底膜抗体腎炎モデルにおいて、SM22 α が障害された糸球体上皮細胞に発現することを見出した。本研究では、上皮細胞障害と尿細管間質障害を併発する巣状糸球体硬化症モデルであるラットアドリマイシン（ADR）腎症と、ヒト腎疾患でのSM22 α の発現を組織学的に検討し、その病理学的意義について検討した。

【方法】Wistar ラット（25匹）にADR（7.5mg/kg/bw）を静注して作製したADR腎症と、腎生検にて診断されたIgA腎症、微小変化型ネフローゼ症候群（MCNS）、膜性腎症、ANCA関連腎炎、糸球体肥大症、微小変化群（MGA）を、抗SM22 α 抗体を用いて免疫組織染色を行った。免疫組織染色でのSM22 α の発現範囲、強度を定量化し生化学検査データとの関連を検討した。また免疫電子顕微鏡法を用いて細胞内におけるSM22 α 発現の局在を観察した。

【結果】ADR腎症ラットでは、静注後7日では糸球体上皮細胞に発現し、28日以降は間質細胞にも発現した。糸球体上皮細胞では基底膜に接した細線維が高密度に凝集した部分に発現が認められた。腎機能指標Ccrと尿細管間質におけるSM22 α 陽性面積、尿蛋白量と糸球体におけるSM22 α 陽性面積が強く関連した。また腎組織全体におけるSM22 α の発現は、腎機能指標Ccrが低下するほど大きくなることがわかった。ヒト腎疾患では糸球体上皮細胞パターンで発現が認められた。間質障害の強い例では上皮細胞の他に間質細胞にも発現が認められた。

【結論】ADR腎症におけるSM22 α は、急性期には糸球体上皮細胞に発現し、慢性期では糸球体上皮細胞、半月体と間質細胞に発現する。糸球体上皮細胞での発現は尿蛋白量を反映し、間質での発現は腎機能低下を反映する。SM22 α は腎疾患のユニークな腎障害マーカーであることが判明した。

キーワード：SM22 α ，Transgelin，糸球体上皮細胞，尿細管間質細胞，腎障害マーカー

Reprint requests to: Wang XINGZHI
Division of Clinical Nephrology and
Rheumatology Znstitute of Nephrology
Niigata Graduate School of Medical and Dental
Sciences
1-757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学医歯学総合研究科腎膠原病内科

王 興 智

はじめに

SM22 α は別名 Transgelin としても知られる分子量 22KDa の蛋白質で、その機能は未だ完全には明らかにされていない¹⁾²⁾。他に p27, WS310³⁾ などと呼ばれ、分化血管平滑筋細胞の特異マーカーとして知られている。平滑筋の細胞骨格に局在し、カルポニンファミリーに属する^{4)–6)}。SM22 α ノックアウトマウスの表現型はコントロールと比べると差がないが⁷⁾、apoE ノックアウトマウスと SM22 α ノックアウトマウスを掛け合わせると、動脈硬化病変の平滑筋細胞数が増加、硬化病変の拡大が確認され、SM22 α は平滑筋細胞の増殖性を制御する可能性が指摘されている⁸⁾。また肺繊維症モデルマウスでは、肺胞上皮細胞 II に発現し、上皮間葉移行 (epithelial-mesenchymal transition: EMT) を誘導することが示されている⁹⁾。さらに、SM22 α は組織のリモデリングに関わるマトリックスメタロプロテアーゼ 9 を抑制し、腫瘍の増殖を抑える¹⁰⁾。このように近年、SM22 α の病理学的な意義が注目されている。

モデルとして用いた巣状分節状糸球体硬化症は、大量の尿タンパク、巣状分節性糸球体硬化、癒着などを特徴とし、進行性に腎機能が低下する腎疾患である。本症は本質的にポドサイト疾患と考えられており、ポドサイトの突起消失に始まり、糸球体硬化が進行、最終的には腎間質の繊維化も伴う¹¹⁾。ラットアドリアマイシン腎症は巣状分節状糸球体硬化症のモデルとして本症の病態解析に用いられている¹²⁾。

私たちはラット抗糸球体基底膜抗体腎炎モデルにおいて、SM22 α が障害された糸球体上皮細胞に発現することを見出した¹³⁾¹⁴⁾。この研究では、巣状糸球体硬化症のモデルであるラットアドリアマイシン腎症とヒト各種腎疾患における SM22 α の発現を検討した。そしてその発現を腎組織上で定量化し、発現の病理学的意義について検討した。

材料と方法

ラットアドリアマイシンモデル (ADR 腎症)

8週 Wistar ラットにアドリアマイシン (和光, 東京) を生理食塩水で溶解し (6 mg/kg), 尾静脈から静注して ADR 腎症を惹起した。静注後、7日, 14日, 28日, 42日で24時間採尿と採血を行い、腎臓を摘出、腎病変を検討した。コントロールグループは0日に生理食塩水を静注した。

遺伝子組換え SM22 α 蛋白 (rSM22 α) の合成

600塩基対のラット SM22 α 全長 cDNA を Nested PCR により増幅し 257塩基の cDNA を テンプレートとして作製した (図 1)。増幅した cDNA を PQE-30UA ベクターに挿入、大腸菌 JM109 株に導入した。組換え蛋白の発現及び精製は Qiagen のプロトコールに従って行った。ヒスチジン融合蛋白として発現させた蛋白は SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) にてサイズと精製度を確認した。ヒトの遺伝子組換え SM22 α 蛋白は同様に、507塩基の cDNA をテンプレートとして作製した (図 1)。

抗 SM22 α モノクローナルと抗 SM22 α ポリクローナル抗体

マウス抗 SM22 α モノクローナル抗体の作製は Medical & Biological Laboratories (長野, 日本) に依頼した。方法を簡潔に記す。完全フロイントアジュバントとラット rSM22 α の混合物で免疫した Balb/c マウスのリンパ節からリンパ球を分離し、骨髄腫細胞 P3U1 と融合した。ハイブリドーマの培養上清を rSM22 α を用いた ELISA により選別、クローニングしたハイブリドーマ細胞 (75-7) を大量培養し、培養上清を Protein-G セファロースで精製した。isotype は IgG1 であった。

ウサギ抗 SM22 α ポリクローナル抗体は、ラット/ヒト rSM22 α を抗原として3週間毎にウサギに免疫し、計5回免疫した後に全採血し、血清を rSM22 α 抗原アフィニティカラムを用いて精製した。

Primer	Sequeence	Product size
Rattus norvegicus Sm22 α Sense ①	GCCAACAAGGGGTCCATCCTAT	600bp
Rattus norvegicus Sm22 α Anti-Sense ②	ACTGATGATCTGCCGGGGGTCG	
Rattus norvegicus Sm22 α Sense ③	TCCATGGTCTTCAAGCAGATG	257bp
Rattus norvegicus Sm22 α Anti-Sense ④	CTCCTG CAGTTGACTGTCTGTG	
Homo sapiens Sm22 α Sense①	GCCAACAAGGGTCCTTCCTAT	600bp
Homo sapiens Sm22 α anti- Sense ②	ACTGATGATCCTGCCGAGGTCG	
Homo sapiens Sm22 α Sense①	GCCAACAAGGGTCCTTCCTAT	507bp
Homo sapiens Sm22 α anti- Sense ④	CTCCTGCAGCTGGCTCTCTGT	

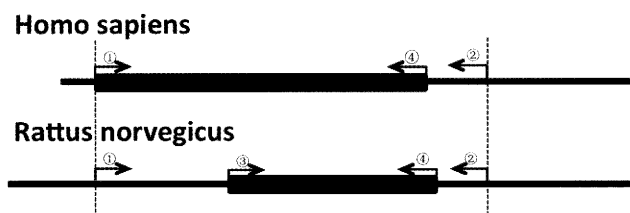


図1 SM22 α cDNA のクローニング

ラット大動脈の total RNA から 600 塩基対のラット SM22 α cDNA を合成した。primers ①②を使用して PCR により増幅し，primers ③④を用いて nested PCR を行い 257 塩基対の cDNA を組換え蛋白のテンプレートとして作製した。ヒト SM22 α cDNA は PMA で刺激した末梢血白血球の total RNA から合成した。PCR により 507 塩基対の cDNA を組換え蛋白 (19.1kd) のテンプレートとして作製した。

免疫染色

ラットの免疫染色では，一次抗体はマウス抗ラット SM22 α モノクローナル抗体 (75-7)，二次抗体はヤギ抗マウス Ig 抗体-HRP (DAKO) を用いた。ヒト腎生検の免疫染色では，一次抗体は抗ラット SM22 α ポリクローナル抗体，二次抗体はヤギ抗ウサギ Ig 抗体-HRP (DAKO) を用いた。一次抗体のコントロールとしてそれぞれマウス非特異 IgG1，非特異ウサギ Ig を用いた。

免疫電顕

ラット腎組織を親水性メタクリレートレジンで包埋し，超薄切片を抗ラット SM22 α ポリクローナル抗体を一次抗体として反応させ，金コロイド粒子標識二次抗体として用いた。金コロイド増強剤 (IntenSE M, GE Healthcare) を用いた後，1% 酢酸ウラン，1% クエン酸鉛で染色後，電子顕微鏡 (H-600A，日立ハイテクノロジー) で観察した。

ウェスタンブロッティング

マウス抗ラット SM22 α モノクローナル抗体 (75-

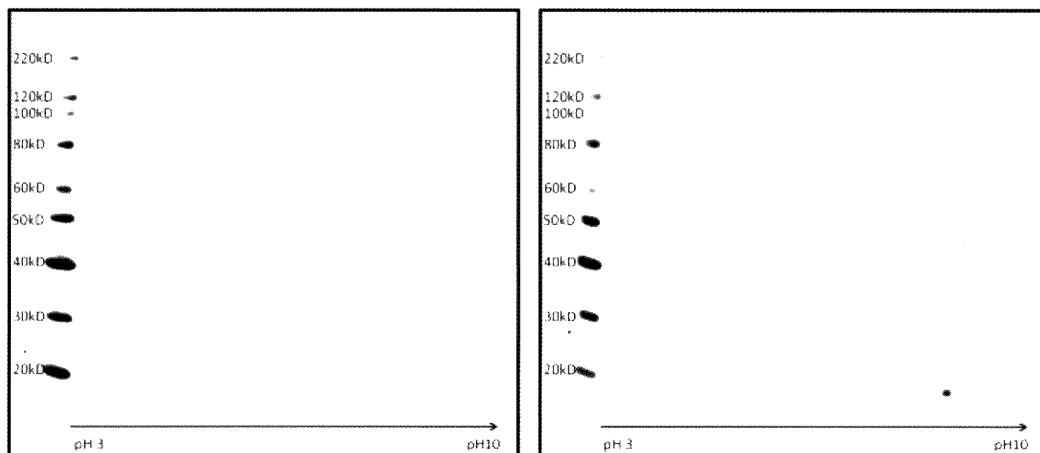


図2 マウス抗ラット SM22 α モノクローナル抗体 (75-7) の特異性
ラット大動脈のライセート 100 μ g を 2次元電気泳動で展開し、コントロール非特異抗体 (IgG1)
(左) と 75-7 を用いてブロッティングを行った。

7) の特異性を確かめるため、ラット大動脈の lysate を Zoom[®] IPGRunner system (Invitrogen corporation) を用いて 2次元電気泳動を行った。1次元目の isoelectric focusing (IEF) は pH 3-10 gel strips (泳動条件 15min at 175V, 45min at 175-2000V, 30min at 2000V) を用い、2次元目は Novex[®] 4-12% Bis-Tris Zoom[®] gels を用いた。泳動後 PVDF へ転写し、1次抗体を 75-7、2次抗体を goat anti-mouse IgG-HRP (DAKO) を用いてブロッティングを行った。

マウス抗ラット SM22 α モノクローナル抗体 (75-7) とウサギ抗ラット SM22 α ポリクローナル抗体の特異性と抗原認識の一致性を確認するために以下の方法で免疫沈降-ウェスタンブロッティングを行った (図2)。ヒト rSM22 α 蛋白あるいは 10 μ g のラットの動脈の lysate を抗ラット SM22 α モノクローナル抗体 (75-7) を用いて免疫沈降し、SDS-PAGE で分離、PDVF 膜に転写後、ビオチン化抗 SM22 α モノクローナル抗体 (75-7) あるいはポリクローナル抗体を一次抗体として用いた。次にそれぞれ、ストレプトアビジン-HRP、または二次抗体としてヤギ抗ウサギポリクローナル抗体-HRP (DAKO) を使ってブロッティングを行った。

画像の定量化

SM22 α 発現量は、免疫染色像を解析ソフト ImagePro Plus を用いてデジタル画像として取り込んだ後に定量化した。陽性部分の定量化の方法を具体的に示した (図3)。陽性の部分を赤色で標識し、緑の数字は陽性部分をナンバリングしたものである。右には測定結果を示す。測定項目は、SM22 α 陽性部分の面積 (PA) と染色強度 (IOD; integrated optical density)、任意に選んだ糸球体面積 (GA) と任意に選んだ尿細管間質領域の面積 (TA) である。測定は5枚の連続切片から、糸球体9個をランダムに選び、それぞれ3回測定してその平均値を求めた。尿細管間質領域では同様にしてランダムに5カ所を選び、それぞれ3回測定して平均値を求めた。糸球体面積当たりの陽性部分の面積 (PA/GA)、尿細管間質領域面積当たりの陽性部分の面積 (PA/TA)、糸球体面積当たりの陽性部分の染色強度 (IOD/GA)、尿細管間質領域面積当たりの陽性部分の面積 (IOD/TA) を求めて統計処理を行った。

統計処理

データは平均値 \pm 標準偏差 (SD) を示した。One-way factorial ANOVA と Bonferroni/Dunn

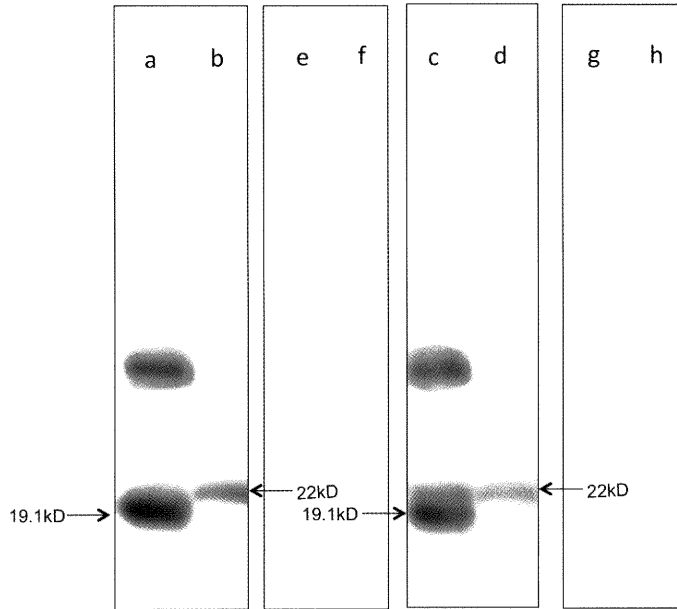


図3 SM22 α モノクローナル抗体(75-7)とSM22 α ポリクローナル抗体の特異性と認識抗原の一致

75-7を用いてヒトrSM22 α とラット大動脈のライセートで免疫沈降を行い、ビオチン化75-7(a, b)と抗SM22 α ポリクローナル抗体(c, d)でウェスタンブロットを行った。コントロールはビオチン化非特異マウスIgG1(e, f)、非特異ウサギIgG(g, h)を用いて同様にウェスタンブロットを行った。

post hoc test を用いて組織・生化学データの有意差を検定した。組織データと生化学データの相関はステップワイズ回帰分析法で検定した。統計処理はSPSS 12.0ソフトウェア(SPSS Inc, Chicago, IL)を用いて行った。P < 0.05を統計的に有意とした。

結 果

マウス抗ラットSM22 α モノクローナル抗体(75-7)とウサギ抗ラットSM22 α ポリクローナル抗体の特異性と認識抗原の一致性の検定

ウサギ抗ラットSM22 α ポリクローナル抗体の特異性については前報¹³⁾でウェスタンブロットを用いて示した。マウス抗ラットSM22 α モノク

ローナル抗体(75-7)の特異性を調べるためにラット大動脈のライセートを2次元に展開して、75-7を一次抗体としてウェスタンブロットを行った。図1に示すように22kd, pI 9.0付近にシングルスポットとして検出された。この結果は他で報告されているSM22 α の性状に合致するものであった¹⁵⁾。この75-7でrSM22 α とラット大動脈のライセートで免疫沈降を行い、ウサギ抗ラットSM22 α ポリクローナル抗体でウェスタンブロットをすることで、両者の抗原認識の一致性について検討した(図2)。75-7の沈降物は、75-7によるブロッティング(a, b)と同様に、抗ラットSM22 α ポリクローナル抗体でも検出された(c, d)。このことからマウス抗ラットSM22 α モノクローナル抗体(75-7)とウサギ抗ラットSM22 α

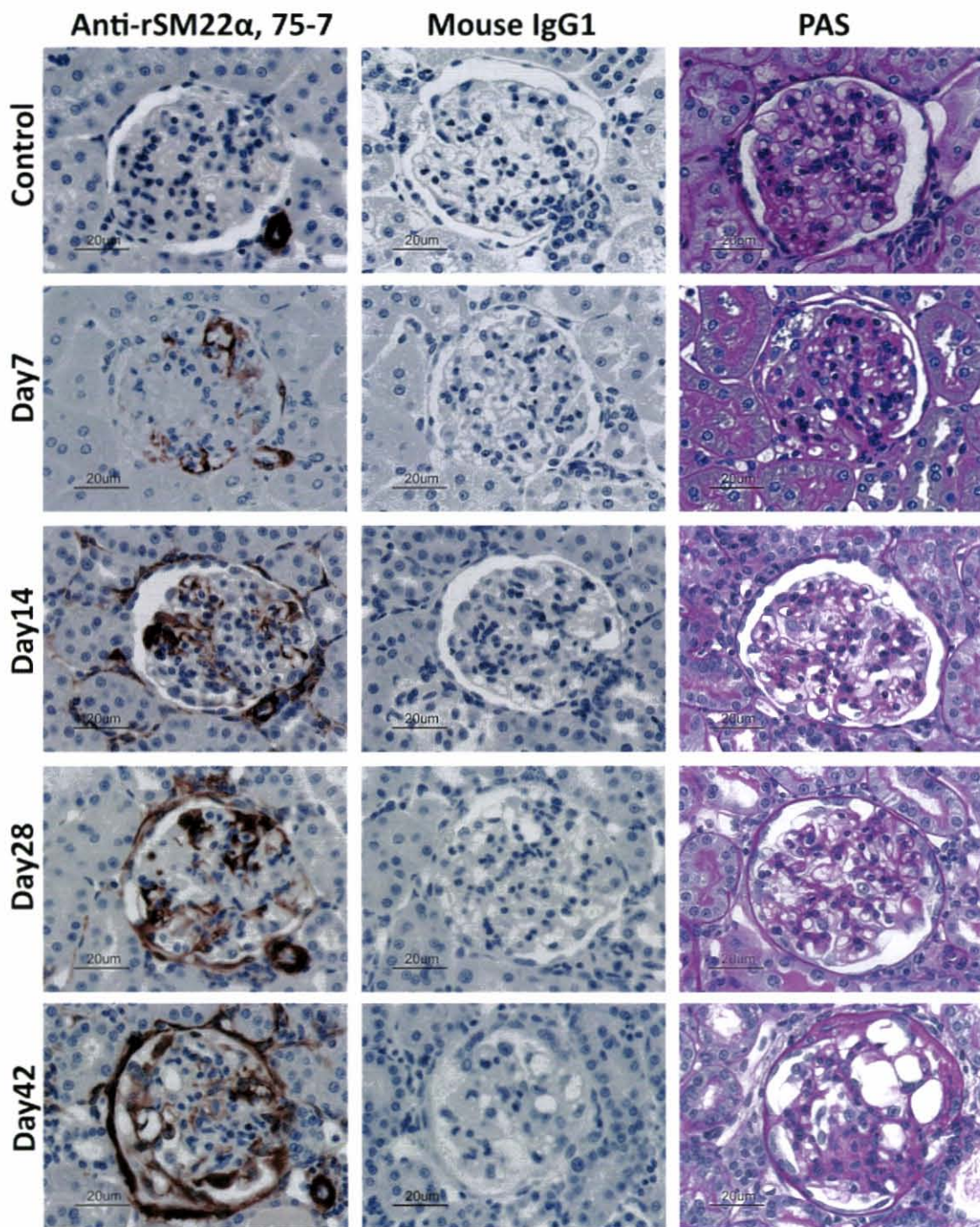


図4 ラット ADR 腎症における SM22 α の発現 (糸球体)

左側カラムは 75-7 を用いた免疫染色, 真中カラムは非特異マウス IgG1 での染色像で, 右側カラムは連続切片の PAS 染色.

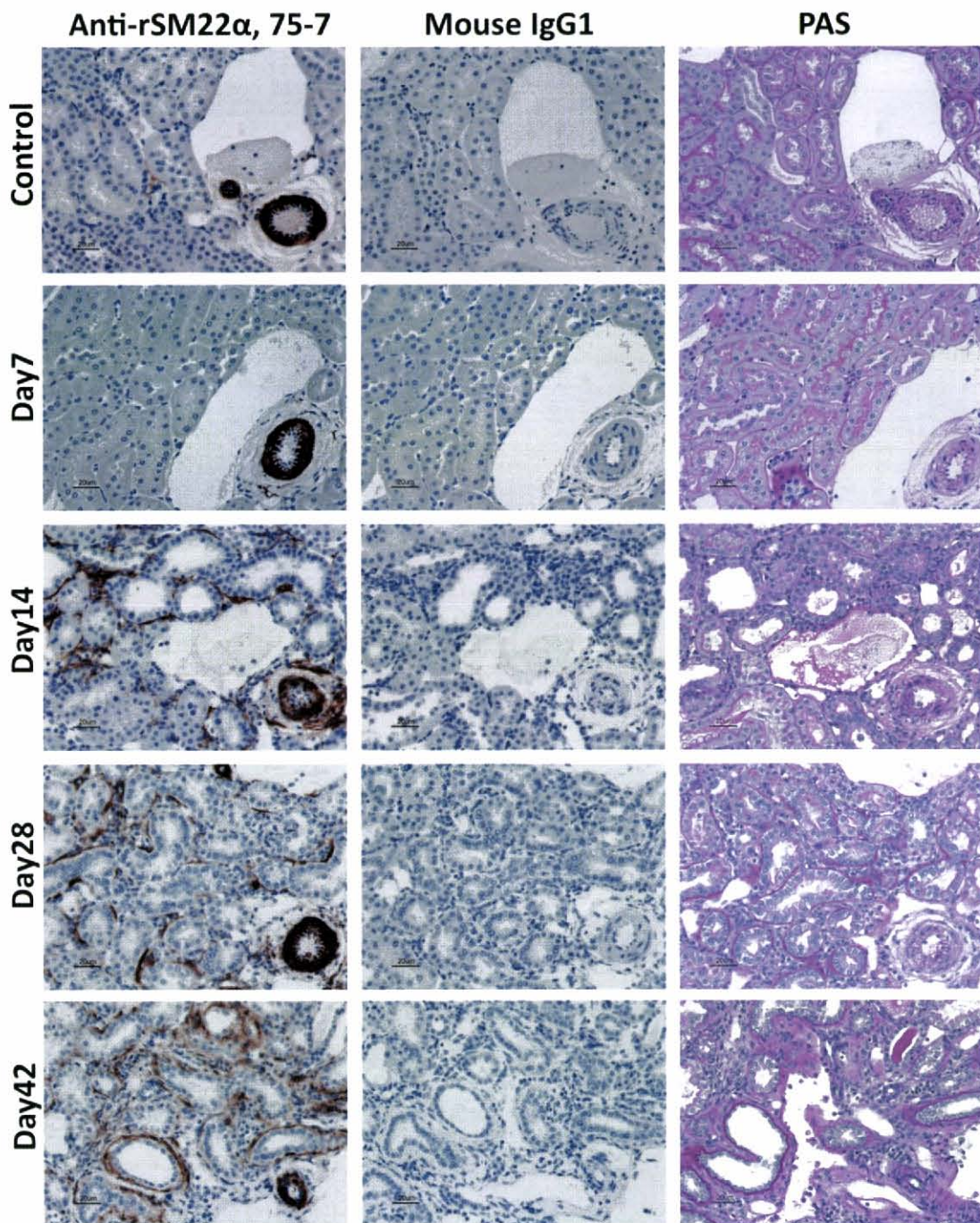


図5 ラット ADR 腎症における SM22 α の発現 (尿細管間質)

左側カラムは 75-7 を用いた免疫染色、真中カラムは非特異マウス IgG1 で染色像で、右側カラムは連続切片の PAS 染色。

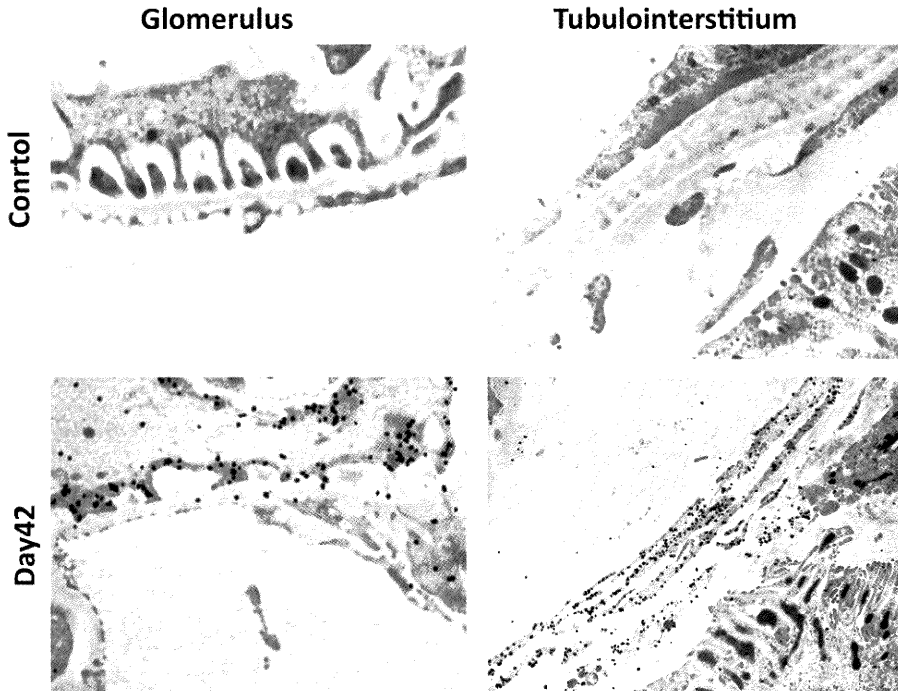


図6 免疫電顕

上段はコントロール（静注前），下段は静注後42日の腎組織。静注後42日目の組織で糸球体上皮細胞にSM22 α が検出された。糸球体上皮細胞では細胞骨格線維の密に集簇した（高濃度）部分に陽性である。また糸球体周囲の間質細胞にもSM22 α は陽性である。

ポリクローナル抗体は同一の分子を認識していることが確認できた。

ラット ADR 腎症における SM22 α 免疫染色

ラットの免疫組織化学はマウス抗 SM22 α モノクローナル抗体（75-7）を用いて行った。0日目（コントロール）では、SM22 α は動脈血管壁のみに検出され、静注後7日目になると臓側及び壁側の糸球体上皮細胞に発現が見られた（図4）。14日目以降は間質細胞にも発現した（図5）。28日目、42日目には、癒着して分節性に硬化した糸球体の一部や半月体部分にも発現が認められた。

免疫電顕

抗 SM22 α ポリクローナル抗体を用いてラット ADR 腎症における SM22 α の細胞内局在を観察し

た。SM22 α は糸球体上皮細胞の足突起が融合した部分に、基底膜に沿って発現しているのが観察された。また発現部分にはアクチンフィラメントが高密度に濃縮していた。また間質細胞にも細胞質に発現が認められた。一方、コントロールグループのラット腎では糸球体、間質に発現は認められなかった（図6）。

免疫染色標本の定量化と生化学指標

SM22 α と生化学指標の関係を検討するため、SM22 α 免疫染色を Image-Pro Plus を用いて定量化した。SM22 α 陽性部分の面積（PA）と光学密度（IOD）を測定した。PA と IOD は糸球体と尿細管間質領域で測定し、測定のため選択した糸球体と尿細管間質の面積（GA および TA）との比を計算した（図7）。ステップワイズ回帰解析に

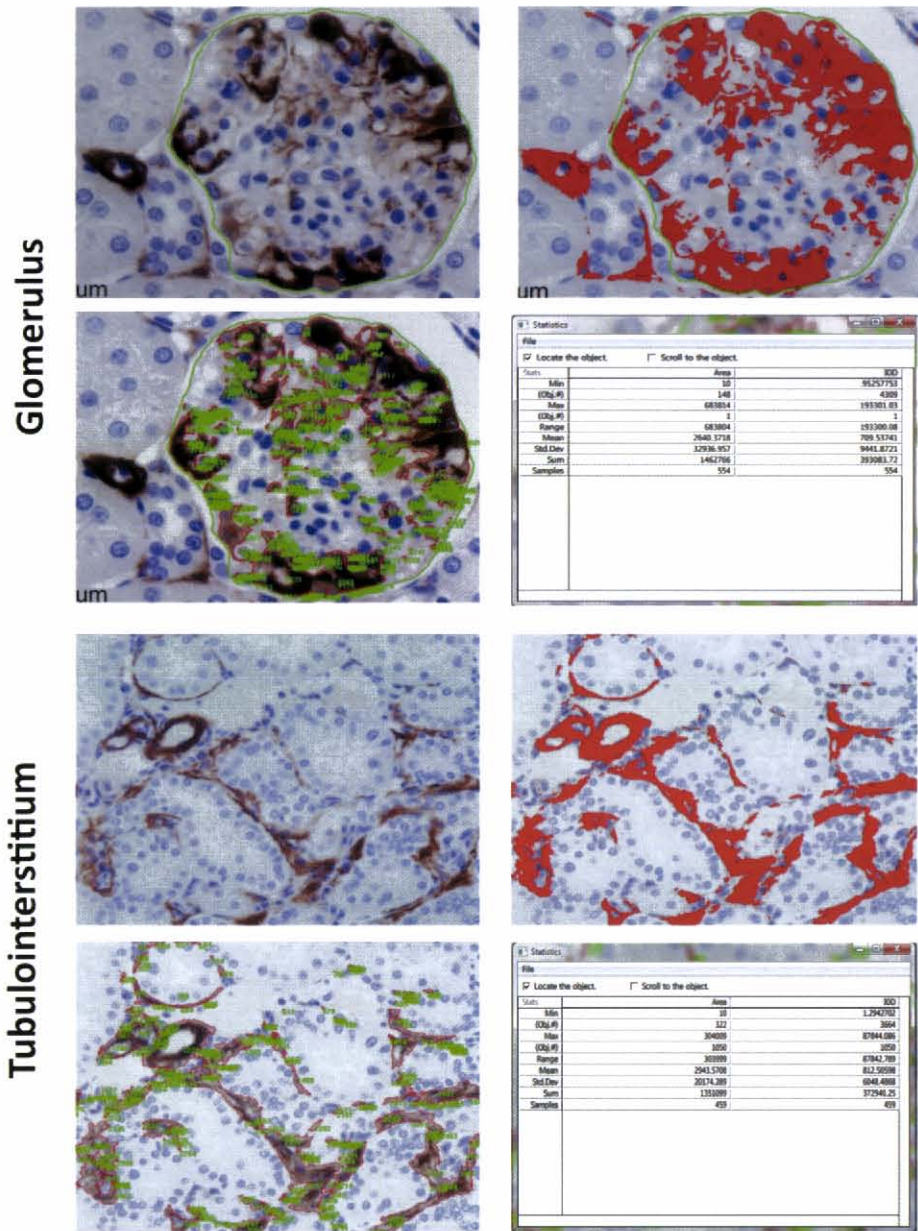
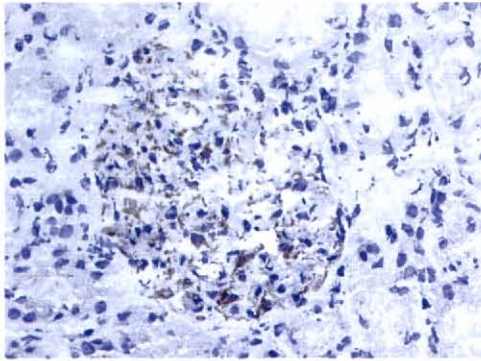
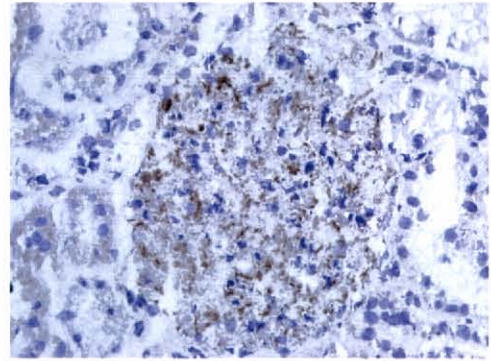


図7 SM22 α の定量化

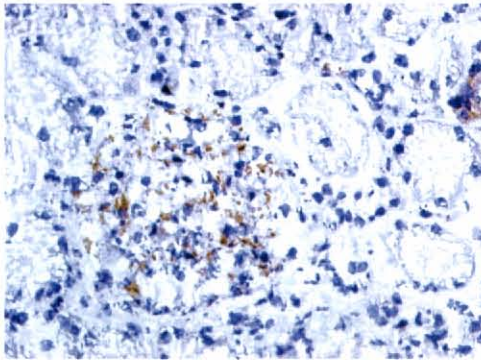
画像解析ソフト Image Pro Plus で解析し定量化した。陽性の部分は赤い色で標識、緑の数字は陽性部分を測定した順番を示している。右下は計算結果。陽性部分の面積 (PA)、陽性部分の染色強度 (IOD; integrated optical density)、観察糸球体全体の面積 (GA) と観察した尿細管間質の面積 (TA) を統計処理に使用した。



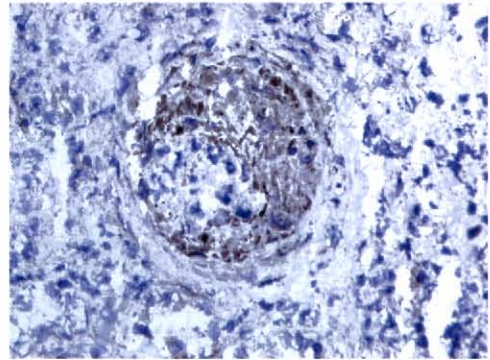
IgAN腎症



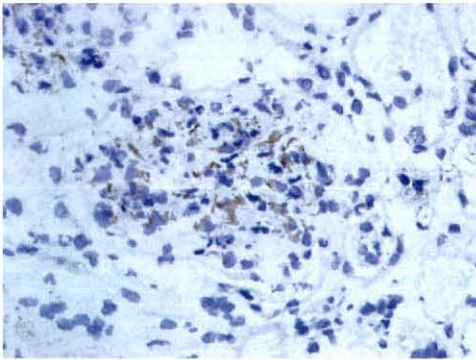
膜性腎症



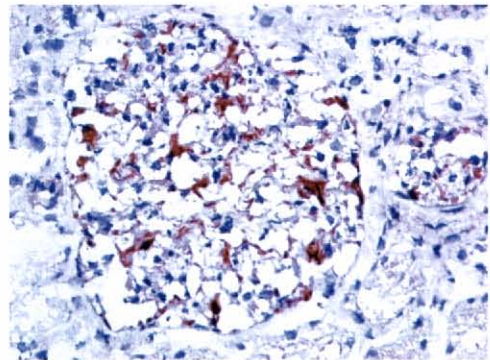
微小変化型ネフローゼ症候群



ANCA関連腎炎



微小変化群



糸球体肥大症

図8 SM22 α 発現と生化学検査との関連

ステップワイズ回帰解析法を用い、SM22 α 発現と生化学指標との関連を検討した。

腎機能指標 Cer の決定因子として PA/TA が first step で採択され (β -coefficient -0.92, $R^2 = 0.836$), 蛋白尿量 Up/Ucr の決定因子として PA/GA が first step で採択された (β -coefficient 0.659, 相関係数 $R^2 = 0.399$) (a). SM22 α 免疫染色変数 (PA/GA, IOD/GA, PA/TA, IOD/TA) の決定因子としては Cer が採択された (b).

(a)

Dependent variable and model ^a	Independent variable	Unstandardized		Standardized		F	P
		β -coefficient	Constant	β -coefficient	R ²		
Ccr	1 step PA/TA	-13.984	3.007	-0.92	0.836	87.897	0.0001
Up/Ucr	1 Step PA/GA	0.486	0.049	0.659	0.399	12.31	0.003

^aRegression models included PA/GA, IOD/GA, PA/TA, IOD/TA.

(b)

Dependent variable and model ^a	Independent variable	Unstandardized		Standardized		F	P
		β -coefficient	Constant	β -coefficient	R ²		
PA/GA	1 step Ccr	-0.087	0.323	-0.883	0.765	56.356	0.0001
IOD/GA	1 step Ccr	-0.03	0.11	-0.859	0.722	45.134	0.0001
PA/TA	1 step Ccr	-0.06	0.202	-0.92	0.836	87.897	0.0001
IOD/TA	1 step Ccr	-0.019	0.065	-0.901	0.8	68.847	0.0001

^aRegression models included Ccr, Scr, BUN, Up, UP/Ucr.図9 ヒト腎疾患における SM22 α の発現ヒト腎生検標本を用いて SM22 α の免疫染色を行った。代表的な染色パターンを示した。

より、腎機能の指標 CCR の予測因子として PA/TA が Step1 で採択され、尿蛋白量 (Up/Ucr) の予測因子として PA/GA が採択された。逆に、SM22 α 免疫染色の定量値 (PA/GA, PA/TA, IOD/GA, IOD/TA) の予測因子としては、CCR が採択された (図8)。

ヒト腎生検標本における SM22 α 免疫染色

腎生検により診断された各種ヒト腎疾患の生検標本を用いて、SM22 α の免疫染色を行った。ラットでの染色パターンと同様に、糸球体に上皮細胞パターンで染色が確認された。いずれの腎疾患においても検出されたが、微小変化群 (minor glomerular abnormalities; MGA) に比して IgA 腎症では発現範囲が広い傾向があった (図9)。

考 察

この研究では、巣状糸球体硬化症モデルであるラット ADR 腎症における SM22 α 発現を新規に作成した抗 SM22 α 特異的モノクローナル抗体 (75-7) を用いて定量化し、生化学的指標との相関関係を検討した。ラット ADR 腎症では SM22 α は、最初糸球体上皮細胞に発現し、28日目以降、間質細胞にも発現した。腎疾患においては一般的には、糸球体障害と尿細管間質障害の混合した様々な病理変化が存在する。そこでラット ADR 腎症でのすべてのステージにおける病理学的な SM22 α 発現の変化と、生化学的検査所見をすべて総合して、両者の相関関係を検討した。SM22 α 発現の糸球体あるいは尿細管間質領域における範囲と強度の両方が、腎機能障害と尿蛋白量に相関が認められた。ステップワイズ回帰分析法による

検討では、重要度順に、尿細管間質領域におけるSM22 α 発現範囲が腎機能（クレアチニンクリアランス；CCR）の低下のもっとも強い規定因子であり、また糸球体領域におけるSM22 α 発現の範囲が尿蛋白量のもっとも強い規定因子であることが分かった。このように、糸球体（主にポドサイト）でのSM22 α の発現は、ポドサイトの機能障害と関係して結果的に蛋白尿の出現につながり、尿細管間質領域のSM22 α の発現は、尿細管間質障害（腎機能が低下するあらゆる進行性腎障害の表現型であり）を表していることが判明した。

この研究で用いた抗SM22 α 特異的モノクローナル抗体（75-7）での免疫染色の結果は、これまでの私たちの研究¹³⁾¹⁶⁾で用いたポリクローナル抗体での免疫染色の結果と同一であった。この研究では巣状糸球体硬化症モデルを用い、これまでの抗糸球体基底膜抗体腎炎モデル、虚血再灌流モデル、5/6腎摘モデルとは異なるものの、モデル特有の障害様式に応じてSM22 α はポドサイトと間質細胞に発現した¹³⁾¹⁶⁾。免疫電顕による観察では、ポドサイトでは足突起が癒合しアクチンフィラメントが密に集合した部分に発現の局在が認められ、間質細胞では細胞質全体に発現の局在が認められた。このような腎障害時の腎細胞におけるSM22 α の発現様式は普遍的な現象のようである。また本研究により、SM22 α がヒトの腎疾患においてもラットの腎疾患モデルと同様のパターンで発現することが確認されたが、現在多数の症例で検討を進めている。

SM22 α がどのような働きをもっているのかは未だ不明である。ポドサイト障害時の基底膜側でのアクチンファイバーの集積、濃度上昇についての電顕的観察の詳細な報告がある¹⁷⁾。アクチンファイバー集積部分には α -アクチニンが含まれ、その機能は微細線維のクロスリンクであることが推測されている。SM22 α はTransgelinとも呼ばれ、*in vitro*でアクチンゲルを安定化させる機能があることが分かっている¹⁸⁾。SM22 α はポドサイト障害時におけるアクチン細胞骨格の再構成を促進するとともに、ポドサイトの何らかの機能をサポートしていることが考えられる。本研究により、

SM22 α の発現が蛋白尿と腎機能低下を反映することが明らかになった。ポドサイトでのSM22 α の発現は糸球体における蛋白漏出のバリア機能を維持する機能を有する可能性がある。また間質細胞におけるSM22 α の発現は、進行性腎疾患の共通の病理変化である尿細管間質の障害度を反映している。SM22 α は、TGF- β とそのシグナル伝達分子Smad-3の直接のターゲット分子であり、TGF- β /Smad-3依存性の遺伝子発現に関与し肺線維症を進展させる可能性が報告されている⁹⁾。SM22 α の腎疾患における機能解析を行い、その発現の病理生理学的意義を明らかにすることは腎疾患の病態を理解する上で重要であると考えられる。

結 論

巣状糸球体硬化症モデルであるラットADR腎症での検討では、SM22 α はADR静注後7日目から糸球体上皮に発現し、静注後14日以降には間質細胞にも発現した。糸球体でのSM22 α の発現は蛋白尿の程度と関連し、尿細管間質領域のSM22 α の発現は進行性の腎機能低下を表していることが判明した。SM22 α は腎疾患のユニークな細胞障害マーカーであると考えられ、ヒトの腎疾患においてもその病理学的意義を検討している。

謝 辞

本研究の推進に当たりご指導いただいた新潟大学医学総合研究科（第二内科）坂爪実准教授、成田一衛教授、また技術指導・援助をいただいた今井直史技官、新潟大学腎研究施設（構造病理学）行田正晃技官、山本格教授に深謝いたします。本研究は、科学研究費基盤研究C（No. 22590882）および新潟大学プロジェクト研究経費により行われた。

参 考 文 献

- 1) Lees-Miller JP, Heeley DH and Smillie LB: An abundant and novel protein of 22 kda (sm22) is widely distributed in smooth muscles. Purification from bovine aorta. *Biochem J* 244: 705-709, 1987.

- 2) Shapland C, Hsuan JJ, Totty NF and Lawson D: Purification and properties of transgelin: A transformation and shape change sensitive actin-gelling protein. *J Cell Biol* 121: 1065 - 1073, 1993.
- 3) Almendral JM, Santaren JF, Perera J, Zerial M and Bravo R: Expression, cloning and cDNA sequence of a fibroblast serum-regulated gene encoding a putative actin-associated protein (p27). *Exp Cell Res* 181: 518 - 530, 1989.
- 4) Duband JL, Gimona M, Scatena M, Sartore S and Small JV: Calponin and sm 22 as differentiation markers of smooth muscle: Spatiotemporal distribution during avian embryonic development. *Differentiation* 55:1 - 11, 1993.
- 5) Pearlstone JR, Weber M, Lees-Miller JP, Carpenter MR and Smillie LB: Amino acid sequence of chicken gizzard smooth muscle sm22 alpha. *J Biol Chem* 262: 5985 - 5991, 1987.
- 6) Lawson D, Harrison M and Shapland C: Fibroblast transgelin and smooth muscle sm22alpha are the same protein, the expression of which is down-regulated in many cell lines. *Cell Motil Cytoskeleton* 38: 250 - 257, 1997.
- 7) Zhang JC, Kim S, Helmke BP, Yu WW, Du KL, Lu MM, Strobeck M, Yu Q and Parmacek MS: Analysis of sm22alpha-deficient mice reveals unanticipated insights into smooth muscle cell differentiation and function. *Mol Cell Biol* 21: 1336 - 1344, 2001.
- 8) Feil S, Hofmann F and Feil R: Sm22alpha modulates vascular smooth muscle cell phenotype during atherogenesis. *Circ Res* 94: 863 - 865, 2004. Epub 2004 Mar 2025.
- 9) Yu H, Konigshoff M, Jayachandran A, Handley D, Seeger W, Kaminski N and Eickelberg O: Transgelin is a direct target of tgf-beta/smad3-dependent epithelial cell migration in lung fibrosis. *FASEB J* 22: 1778 - 1789, 2008.
- 10) Nair RR, Solway J and Boyd DD: Expression cloning identifies transgelin (sm22) as a novel repressor of 92-kDa type IV collagenase (mmp-9) expression. *J Biol Chem* 281: 26424 - 26436, 2006.
- 11) Schnaper HW: Idiopathic focal segmental glomerulosclerosis. *Semin Nephrol* 23: 183 - 193, 2003.
- 12) O'Donnell MP, Michels L, Kasiske B, Raj L and Keane WF: Adriamycin-induced chronic proteinuria: A structural and functional study. *J Lab Clin Med* 106: 62 - 67, 1985.
- 13) Ogawa A, Sakatsume M, Wang X, Sakamaki Y, Tsubata Y, Alchi B, Kuroda T, Kawachi H, Narita I, Shimizu F and Gejyo F: Sm22alpha: The novel phenotype marker of injured glomerular epithelial cells in anti-glomerular basement membrane nephritis. *Nephron Exp Nephrol* 106: e77 - 87, 2007.
- 14) Kaneko Y, Sakatsume M, Xie Y, Kuroda T, Igashima M, Narita I and Gejyo F: Macrophage metalloelastase as a major factor for glomerular injury in anti-glomerular basement membrane nephritis. *J Immunol* 170: 3377 - 3385, 2003.
- 15) Tyagi P, Chen X, Hayashi Y, Yoshimura N, Chancellor MB and de Miguel F: Proteomic investigation on chronic bladder irritation in the rat. *Urology* 71: 536 - 540, 2008.
- 16) Inomata S, Sakatsume M, Sakamaki Y, Wang X, Goto S, Yamamoto T, Gejyo F and Narita I: Expression of sm22alpha (transgelin) in glomerular and interstitial renal injury. *Nephron Exp Nephrol* 117: e104 - e113, 2010.
- 17) Shirato I, Sakai T, Kimura K, Tomino Y and Kriz W: Cytoskeletal changes in podocytes associated with foot process effacement in masugi nephritis. *Am J Pathol* 148: 1283 - 1296, 1996.
- 18) Assinder SJ, Stanton JA and Prasad PD: Transgelin: An actin-binding protein and tumour suppressor. *Int J Biochem Cell Biol* 41: 482 - 486, 2009.

(平成 22 年 12 月 20 日受付)