

# 平成27年度成果報告

## HP掲載済み

対象者		助成活動概要	成果報告
東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科	東島 佳毅	京都にて開催のキーストンシンポジウム参加交通費	申請者は2015年10月25日～30日ウェスティン都ホテル京都において行われたKeystone symposia, Diabetes: New Insight into Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies (T2)に参加し、糖尿病治療薬、DPP-4阻害薬の糸球体腎炎モデルにおける腎保護効果についてポスター発表を行った。この会議において世界一流の研究者の講演を聴講でき、刺激を受けるとともに自分の研究のヒントも得ることもでき、大変有意義な学会参加となった。
筑波大学附属病院 腎臓内科・血液浄化療法部	永井 恵	腎臓の自然炎症と線維化における好中球顆粒MPOの機能解明	MPO遺伝子欠損マウスを用いた腎虚血再灌流モデルを実施した。MPOは、腎虚血再灌流後の腎障害に対して促進的な役割を担うことを示すことができた。腎における急性期の炎症が、どのような機序で線維化にいたるかの解明は、現在検討中である。
社会医療法人川島会川島透析クリニック	土田 健司	On-lineHDF療法での除去マーカについての検討	On-line HDF療法での除去マーカを検討した。マーカとしては尿毒症性物質の可能性もあるFGF-23(分子量約36,000ダルトン)、およびFetuinA(分子量約67,000ダルトン)について検討した。HD/HDF患者のFGF-23は血清Pと相関関係があり、治療モードとの比較ではSuper high flux HDとon-line HDFでの差はなかった。ただし、on-line HDFではPre、Postとも置換液量の増加とともに除去量も多くなった。一方、FetuinAと各治療モードでの血清濃度値には差がなく、HD、on-line HDFで除去率、除去量に関して有意な差はなかった。On-line HDF療法での除去マーカとしてこの2者についてはコスト的な面から考えても不向きであることが推察された。
岡山大学病院 腎臓・糖尿病・内分泌内科	中司 敦子	アディポカインによる糖尿病性腎症の進展抑制機構の解明—細胞内小器官への作用に注目して	本研究では我々が同定したアディポカインであるバスピンの糖尿病性腎症に対する作用の解明を目的とした。バスピントランスジェニック・ノックアウトマウスを用いて肥満糖尿病モデル、ストレプトゾトシン誘発1型糖尿病モデルを作製して検討した。バスピンは、肥満や糖尿病における近位尿管細胞のライソソーム、オートファジー、アポトーシスへ作用することが示唆された。
秋田大学医学部附属病院腎疾患先端医療センター	佐藤 滋	人口比透析患者数最少県の慢性腎臓病から先行的腎移植までの腎疾患トータルマネジメント推進と移植腎長期生着の向上	研究活動は現在も継続中である。助成金は、抗HLA抗体・抗ドナー抗体検出のための試薬購入の一部と、医師やレシピエントコーディネーターの学会・研究会参加費・旅費の一部、として使用した。前者は術前の既存抗体の検出による抗体除去療法の個別化、術後の新規抗体検出による治療法選択の支援となった。これは移植成績向上に貢献しているものと考えられる。また後者は、医師・レシピエントコーディネーターによる患者指導・支援の向上に貢献し、引いては移植成績の向上になるものと考えられる。腎疾患トータルマネジメント推進も遂行中であり、本助成金からはCKDプロジェクトのチラシ印刷費の一部として使用した。
昭和大学医学部内科学講座腎臓内科学部門	溝淵 正英	Ca負荷による血管平滑筋細胞石灰化へのCa受容体作動薬の作用についての検討	ヒト大動脈血管平滑筋細胞を高Ca濃度(5mM)の培地にて培養すると、石灰化が促進した。またこの石灰化には細胞内Ca濃度の上昇と血管平滑筋細胞の骨芽細胞様細胞への形質転換を伴っていたことから、細胞外Ca濃度の上昇により、細胞内Ca濃度が上昇し、形質転換が促進することが石灰化のプロセスであると推察された。本系にcalcimimeticsのR-568(10 <sup>-7</sup> M)を添加しても、血管石灰化の抑制や細胞内Ca濃度変化は抑制されなかった。今後は、calcimimeticsの濃度調節や、石灰化の時間的推移、Ca感知受容体を介したシグナル伝達系を検討することが課題である。

# 平成27年度成果報告

## HP掲載済み

対象者		助成活動概要	成果報告
東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科 先端腎臓・再生医学講座	高瀬 敦	ヒト腎臓由来iPS細胞のEpigenetic Memory解析による新規腎系統分化誘導因子の同定	我々はiPS細胞のEpigenetic Memoryを解析するため、腎臓由来と線維芽由来iPS細胞のiPS化前後、分化誘導時における包括的DNAメチル化解析とDNA Microarray解析を行った。腎臓分化誘導に関わると考えられる高メチル化遺伝子群56個、低メチル化遺伝子群17個を同定し、その候補遺伝子のそれぞれの発現パターンを解析した。メチル化修飾による遺伝子発現パターン解析より新規腎系統特異的分化誘導因子と考えられる遺伝子をいくつか同定した。それら遺伝子の相互作用や発現変動を更に研究中である。
日本医科大学腎臓内科学	三井 亜希子	造血幹細胞移植後腎障害の発症機序の解明	日本医科大学で造血幹細胞移植後に施行された腎生検、剖検例の症例数のアップデートを行い、臨床データの収集・解析、病理組織所見の評価を行った。また各種免疫染色を追加し検討をおこなっている。腎障害とGVHDとの関連が強く疑われた症例をまとめて、治療経過を含めて論文を作成し投稿準備中である。また、同種骨髄移植の動物実験モデルでは、腎TMAモデル作成の再現性の確認をおこなっている。
京都大学大学院腎臓内科学講座	金子 恵一	新規遺伝子組み換えマウスを用いた、障害腎におけるエリスロポエチン産生細胞の解明	新規遺伝子組み換えマウス、EPO-CreERT2マウスによって標識される細胞 (EPO-CreERT2標識細胞)は腎線維芽細胞であった。Double ISHによって、EPO-CreERT2標識細胞がEPO mRNAを産生することが示された。これらの結果からEPO-CreERT2標識細胞はEPO産生細胞を標識しているものと考えられた。このマウスに一側尿管結紮による線維化を惹起したところ、EPO-CreERT2標識細胞は死滅しておらず、myofibroblastに形質転換し増殖することが明らかになった。EPO-CreERT2マウスは障害腎におけるEPO産生細胞の挙動を追跡するツールとして有用と考えられた。
熊本大学医学部附属病院循環器内科	花谷 信介	骨格筋-腎臓連関を司る骨格筋由来新規液性因子の探索及びその治療応用	骨格筋肥大マウス(Akt1TGマウス)および野生型マウスの骨格筋を用いたプロテオーム解析の結果Akt1TGマウス骨格筋で発現が上昇したタンパクを解析し、約10のタンパクがAkt1を過剰発現した培養骨格筋細胞でも発現が増加し、かつ培養液中においても検出可能であることを見出した。そのうちの一つであるheme oxygenase-1(HO-1)については骨格筋特異的なノックアウトマウスの作製にも成功し、現在表現型を解析しているところである。
東京女子医科大学 泌尿器科	石井 瑠美	NKT細胞の活性化によりドナーT細胞を制御する新しい免疫寛容誘導法の確立	NKT細胞の活性化により、成熟ドナーT細胞を移入しても、移植片対宿主病を起こさず、より確実に移植免疫寛容が誘導できる骨髄移植modelの確立に成功した。本研究内容は、the 2016 American Transplant Congressにて口頭発表した。
東京慈恵会医科大学腎臓高血圧内科	中田 泰之	カベオリン-1/カベオラの発現が、慢性抗体型拒絶反応に与える影響	98例の移植腎レシピエントの移植腎生検切片を、カベオリン-1(CAV-1)抗体と尿尿管毛細血管(PTCs)のマーカーであるPAL-E抗体を用いて二重免疫染色をし、PTCsにおけるCAV-1免疫反応性を半定量的に評価した。結果、PTCsにおけるCAV-1免疫反応性(CAV-1/PAL-E in PTCs)の高いことが、移植腎予後不良と関連し、移植腎予後の独立した危険因子であることが判明した。同結果はClinical Transplantation誌に投稿し2016年8月付でアクセプト・掲載された。

# 平成27年度成果報告

## HP掲載済み

対象者		助成活動概要	成果報告
東京慈恵会医科大学腎臓高血圧内科	小林 賛光	腎移植後早期にみられる髄放射線障害 (Medullary ray injury) の臨床病理学的意義について	腎移植後3か月以内に早期の髄放射線障害がある群は、3年後における血清Cr値が高値であり、また、1年後のBanff分類でのci+ctスコアも有意に上昇していた。このことから、早期髄放射線障害は、移植腎の線維化進展及び移植腎予後に影響を及ぼす可能性が示唆された。本研究内容は、2015年度アメリカ腎臓学会でポスター発表、第49回日本臨床腎移植学会にて口頭発表し、現在論文投稿中である。
東京慈恵会医科大学腎臓高血圧内科	松本 啓	異種胎生臓器ニッチを用いた腎再生法の検討	本研究では過去の報告に基づき、ヒトiPS細胞から腎前駆細胞への分化誘導を試み、in vitroにおいて効率よくヒト腎前駆細胞へ分化誘導を行える方法を確立した。今まで腎発生段階にある後腎を移植していたが、後腎ではなく腎前駆細胞シートを移植する事によって、また、腎前駆細胞を後腎へ注入する事によって機能的腎を再生出来るかの検討を始めた。現時点ではラット大網部へ異種移植を行う事により、血管が侵入し、糸球体内への血液の流入を確認できており、機能的解析を行っている。
北海道大学大学院農学研究 院・融合研究分野	清水 英寿	ワサビ成分を用いた腎不全進行抑制の検討	腎不全の食事療法において、タンパク質の摂取制限は、特に重要な項目である。しかし、栄養源であるタンパク質摂取を抑える事には限界がある。そこで、通常の食事療法の中で、減塩の目的で用いられる香辛料のワサビ、特にその成分である6-Methylsulfinylhexyl Isothiocyanate (6-MSITC)に着目した。6-MSITCを腎臓近位尿細管細胞に処理したところ、時間および濃度依存的に抗酸化遺伝子であるHO-1の発現誘導が確認された。HO-1の発現誘導は、腎不全進行因子であるインドキシル硫酸による細胞の線維化を抑制する事が、申請者により明らかとなっている。よってワサビを摂取する事は、減塩による腎臓負荷の軽減と同時に、6-MSITCを介した効果的な腎機能保護作用が期待できる。
名古屋大学医学部附属病院	石本 卓嗣	糖尿病性腎症の発症・進展における内因性フルクトース代謝の関与について	フルクトースの代謝酵素である2種のケトヘキソキナーゼ (KHK-C、KHK-A) の遺伝子改変 マウス (C57BL6/J背景、KHK-A 欠損マウス、KHK-C/KHK-A 両欠損マウス) 及び野生型マウスにストレプトゾトシン誘導性糖尿病モデルを作成した。血糖・体重・食事摂取量・血圧・尿を継続的に測定・採取し、6ヶ月にて血液・組織サンプルを採取した。KHK-A KOマウスは、KHK-C/KHK-A欠損マウスに比して、尿中Ngal上昇・尿細管障害を認めた。現在、腎・血液・尿サンプルを用いて解析を継続している。
名古屋大学大学院医学系研究 科・腎臓内科	丸山 彰一	次世代脂肪由来幹細胞の開発	脂肪からは再生促進能および免疫抑制能を有する間葉系幹細胞が採取可能である。我々が開発した低血清培養法で増幅した脂肪由来幹細胞 (LASC) は、こうした治療効果が特に優れている。臨床応用に向けた試みとして、ヒト由来LASCをラットの糸球体腎炎モデルに投与し、その治療効果を検討した。その結果、ヒト由来LASCはラット由来LASCと同様、タンパク尿を抑制し、腎機能低下を軽減した。さらに、投与回数や投与細胞数について検討し、従来6回投与していたものを3回投与とまで減少させても治療効果が得られることを見いだした。