

# BMP 調節因子群が制御する腎幹細胞維持および 障害修復メカニズムの解明

京都大学 次世代研究者育成センター「白眉プロジェクト」  
柳田 素子

## 1. 目的

骨形成因子 BMP-7 を腎不全モデルに投与すると腎組織が修復され腎機能が回復する。これは腎不全からの回復という点で画期的であるが、他臓器への広範な副作用が問題である。BMP-7 の活性は分泌蛋白である BMP 調節因子によって制御されるが、その発現には比較的臓器特異性があり、BMP 自体よりも治療標的として有望である。申請者は腎臓の遠位尿細管特異的に発現する BMP 調節因子 USAG-1 を見出し、その中和抗体には腎臓病治療薬としての可能性があることを見出している。

申請者は「USAG-1 以外にも腎臓の構成細胞にはそれぞれ特異的な BMP 調節因子が存在する」という仮説をたて、培養細胞を用いた *in silico* cloning を行ない、BMP 調節因子である Tsukushi が近位尿細管に、Twisted gastrulation (以後 Twsg) が培養糸球体上皮細胞 (ポドサイト) に発現することを見出した。

本申請課題では、これらの BMP 調節因子が腎臓の恒常性維持および修復・再生にはたす役割を検証し、腎臓病治療への手がかりを探りたい。

## 2. 方法および結果

本研究では、以下の2つの研究を行った。

### 【1】 腎の幹細胞プール維持における BMP 調節因子 Tsukushi の役割の検討

急性腎不全の際には、尿細管細胞が盛んに増殖することで障害ネフロンを修復し、元通りに再生する。この増殖細胞の起源としては、腎臓の近位尿細管の髄質よりの部分 (S3 セグメント) に腎幹細胞が存在するという説が有力であるが、幹細胞の制御システムやマーカーは明らかになっていない。申請者は Tsukushi/LacZ ノックインマウスを用いて、同細胞に Tsukushi が発現していること、虚血再還流障害 (以後 IR injury) 後にその発現が低下することを見出した。さらに、Tsukushi 欠損マウスを用いて、IR injury 後の同細胞の増殖および腎機能変化を検討した。Tsukushi 欠損マウスは IR injury 1 日後の腎機能低下が野生型に比して重度であり、同時期の同細胞群の増殖がより多いこと、7 日後には野生型と同程度まで腎機能が回復することが明らかになった。このことから、Tsukushi 分子は同細胞の増殖を抑制している可能性が示唆された。

### 【2】 糸球体バリア機構を担う糸球体上皮細胞 (ポドサイト) における Twsg の役割の解明

糸球体上皮細胞 (ポドサイト) は糸球体濾過のバリアであり、障害されると蛋白尿が出現する。ポドサイト障害は糸球体硬化から腎不全に至るはじめのステップであり、広範な糸球体障害に共通す

る現象であることから腎不全治療のターゲットとして注目を集めている。

申請者は、培養ポドサイト細胞に Twsg および BMP を添加し、その分化状態や細胞骨格の変化を検証するとともに、Twsg 欠損マウスにネフローゼモデルを惹起することで糸球体バリア機構維持における Twsg の機能を解析した。

培養ポドサイト細胞に BMP を添加すると細胞が肥大するとともに、分化マーカー Podocalyxin の発現が増加し細胞骨格分子の走行が変化し、Twsg 添加ではその作用が抑制された。さらに BMP の下流シグナル Smad の阻害剤である dorsomorphin を添加するとポドサイトがアポトーシスを来すことから BMP シグナルはポドサイトの生存および形態維持に重要な役割を果たすと考えられた。

一方、Twsg 欠損マウスは体格が小さく kinky tail などを認めるが、腎障害惹起前は、腎機能および形態には異常を認めなかった。ポドサイト特異的に immunotoxin の標的分子を発現するトランスジェニックマウスに immunotoxin を投与するとネフローゼ症候群を惹起することが可能になる。Twsg/LacZ ノックインマウスを用いた解析では、健常腎では Twsg は遠位尿細管に局限して発現しているが、前述のモデルを用いてネフローゼ症候群を惹起すると、Twsg が糸球体ボウマン嚢にも発現してくることが明らかとなった。培養ポドサイト細胞には Twsg の発現が認められたが、in vivo ではポドサイトにおける Twsg 発現は認められなかった。さらに Twsg 欠損マウスにネフローゼモデルを惹起すると、野生型マウスに比して、尿蛋白が少なくポドサイトマーカーの発現などが保たれていることが明らかとなった。

### 3. 考察

以上の結果から、Tsukushi は尿細管 S3 セグメントの細胞の増殖を抑制していることが示唆された。Tsukushi 欠損マウスは IR injury 直後の腎機能低下が著しいことから、Tsukushi による細胞増殖抑制は腎保護的に働いている可能性もある。しかしながら Tsukushi の本来の機能および長期的な腎障害における役割には不明な点が多く、今後さらなる検討が必要である。

Twsg は本来は遠位尿細管に局限するが、ネフローゼ症候群を惹起するとボウマン嚢から分泌され、ポドサイト障害を増悪させることが示唆された。

尿細管とポドサイトの障害は多様な腎疾患に共通する現象であり、これらに発現する BMP 調節因子に対する治療戦略は慢性腎臓病に広く有用である可能性が高い。さらに BMP 調節因子はその発現が比較的局限する上に、ヘパリンや細胞外マトリックスへの結合性も高いことから血中に分泌されにくく、臓器内に局限する性質を持つ。そのため、BMP 調節因子を標的とした治療戦略は他臓器への副作用が少ない可能性がある。

### 5. 発表論文、参考文献

1 Mari Tanaka, Misako Asada, Atsuko Y Higashi, Jin Nakamura, Akiko Oguchi, Mayumi Tomita, Sachiko Yamada, Nariaki Asada, Masayuki Takase, Tomohiko Okuda, Hiroshi Kawachi, Aris N. Economides, Elizabeth Robertson, Satoru Takahashi, Takeshi Sakurai, Roel Goldschmeding, Eri Muso, Atsushi Fukatsu, Toru Kita, and Motoko Yanagita  
Loss of the BMP antagonist, USAG-1 ameliorates disease in a mouse model of progressive hereditary kidney disease Alport syndrome  
**J Clin Invest. 120 (3):768-77, 2010**

2 Motoko Yanagita

BMP antagonists in kidney diseases

**Curr Opin Invest Drugs** in press.

3 Atsuko Y. Higashi, Tomokatsu Ikawa, Masamichi Muramatsu, Aris N. Economides, Akira Niwa, Tomohiko Okuda, Andrew J. Murphy, Jose Rojas, Toshio Heike, Tatsutoshi Nakahata, Hiroshi Kawamoto, Toru Kita, and Motoko Yanagita

Direct hematological toxicity and illegitimate chromosomal recombination caused by the systemic activation of CreER<sup>T2</sup>

**Journal of Immunology** 182 (9):5633-40, 2009.

4 New horizons at the caudal embryos: coordinated urogenital/reproductive organ formation by growth factor signaling.

Kentaro Suzuki, Aris Economides, Motoko Yanagita, Daniel Graf, Gen Yamada.

**Curr Opin Genet Dev.** 2009 Sep 16. in press.

5 Motoko Yanagita

BMP modulators regulate the function of BMP during body patterning and disease progression

**Biofactors** 35(2):113-9, 2009.

6 Mari Tanaka, Shuichiro Endo, Tomohiko Okuda, Aris N. Economides, David M. Valenzuela, Andrew J. Murphy, Elizabeth Robertson, Takeshi Sakurai, Atsushi Fukatsu, George D. Yancopoulos, Toru Kita, Motoko Yanagita

Expression of BMP-7 and USAG-1 (a BMP antagonist) in kidney development and injury

**Kidney Int.** ;73(2):181-91, 2008.

7 Mima A, Ichida K, Matsubara T, Kanamori H, Inui E, Tanaka M, Manabe Y, Iehara N, Tanaka Y, Yanagita M, Yoshioka A, Arai H, Kawamura M, Usami K, Hosoya T, Kita T, Fukatsu A.

Acute renal failure after exercise in a Japanese sumo wrestler with renal hypouricemia.

**Am J Med Sci.** 2008 Dec;336(6):512-4.

8 Murashima-Suginami A, Takahashi K, Sakata T, Tsukamoto H, Sugai M, Yanagita M, Shimizu A, Sakurai T, Slavkin HC, Bessho K.

Enhanced BMP signaling results in supernumerary tooth formation in USAG-1 deficient mouse.

**Biochem Biophys Res Commun.** 2008 May 16;369(4):1012-6.

9 Murashima-Suginami A, Takahashi K, Kawabata T, Sakata T, Tsukamoto H, Sugai M, Yanagita M, Shimizu A, Sakurai T, Slavkin HC, Bessho K.

Rudiment incisors survive and erupt as supernumerary teeth as a result of USAG-1 abrogation.

**Biochem Biophys Res Commun.** 2007 Aug 3;359(3):549-55.

10 Motoko Yanagita, Shuichiro Endo, Katsu Takahashi, Tomohiko Okuda, Fumihiro Sugiyama, Satoshi Kunita, Satoru Takahashi, Atsushi Fukatsu, Toru Kita, Takeshi Sakurai

USAG-1, a novel BMP antagonist abundantly expressed in the kidney, accelerates kidney injuries.

**J Clin Invest.** 116: 70-9, 2006.

11 Motoko Yanagita

Modulator of bone morphogenetic protein activity in the progression of kidney diseases.

**Kidney Int.** Sep;70(6):989-93, 2006