

2020年5月22日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学

学校法人昭和大学

学校法人関西医科大学

慢性腎臓病の発症を抑えるしくみを解明  
～既存の白血病治療薬で腎障害悪化が抑制可能に～

研究成果のポイント

1. 糸球体上皮細胞<sup>※1)</sup>が傷害されネフローゼ症候群(むくみ)や腎不全に至る疾患である「巣状分節性糸球体硬化症<sup>※2)</sup>」の発症メカニズムにおける、転写因子<sup>※3)</sup>「MafB」の役割を解明しました。
2. 糸球体上皮細胞に存在する分子群の発現を調節する転写因子 MafB が、糸球体上皮細胞内の濾過機能を保つために重要で、MafB の減少が疾患発症に関係していることを見出しました。
3. 既存の白血病治療薬が、糸球体上皮細胞の MafB を増加させ、腎障害悪化やタンパク尿を軽減する作用を有することがわかりました。

国立大学法人筑波大学医学医療系の高橋智 教授、山縣邦弘 教授、臼井俊明 講師、森戸直記 講師、学校法人昭和大学医学部内科学講座・腎臓内科学部門の佐藤芳憲 講師(藤が丘病院腎臓内科)、学校法人関西医科大学内科学第二講座の塚口裕康 講師らの共同研究グループは、尿中に大量のタンパク質が漏れるネフローゼ症候群をきたす代表的な疾患である巣状分節性糸球体硬化症の発症メカニズムにおいて、糸球体上皮細胞内で転写因子MafBが、尿タンパク漏出を防ぐ濾過障壁(スリット膜)を構成するたんぱく質の遺伝子を含む、複数の遺伝子発現を制御していることを明らかにしました。

巣状分節性糸球体硬化症は、指定難病の対象となっている疾患です。治療にはステロイド剤や免疫抑制薬が用いられますが、難治性で、患者の約4割が、発症後15年程度で末期腎不全に至ることが知られています。主として糸球体上皮細胞の傷害が、巣状分節性糸球体硬化症の発症・進展の鍵を握ると考えられていますが、これまで発症メカニズムは十分に解明されていませんでした。

今回、本研究グループは、巣状分節性糸球体硬化症患者の腎生検標本において、糸球体上皮細胞でのMafBが低下していることを見出しました。マウスの実験でも、糸球体上皮細胞のMafBを欠損させると、タンパク尿が漏出し、巣状分節性糸球体硬化症を発症することが確認されました。また、遺伝子操作や既存の白血病治療薬(オールトランスレチノイン酸<sup>※4)</sup>)投与により、糸球体上皮細胞にMafBを過剰発現させたマウスでは、腎障害悪化やタンパク尿が軽減することを発見しました。これらの結果は、巣状分節性糸球体硬化症の新しい治療法開発につながるものと期待されます。

本研究は、2020年4月28日付「Kidney International」に公開されました。

\* 本研究はJSPS科学研究費の助成を受けたものです。

## 研究の背景

巣状分節性糸球体硬化症(FSGS: Focal Segmental Glomerulosclerosis)は、ネフローゼ症候群の原因疾患の一つで、日本では指定難病に認定されています。一般にネフローゼ症候群の初期治療では、ステロイド治療が行われますが、その効果は限定的で、患者の約 4 割が発症後 15 年程度で末期腎不全にいたることが知られています。FSGS は、主として糸球体上皮細胞が傷害されることが原因と考えられていますが、その詳細な発症メカニズムには不明な部分が多く残されています。

糸球体上皮細胞で転写因子 MafB が発現していることは知られており、これまでに、本研究グループを含め複数の研究グループから、胎児期における糸球体上皮細胞の正常発生に MafB が必須であることが報告されています<sup>参考文献 1)</sup>。MafB の発現は、発生段階のみならず、成体でも糸球体上皮細胞で持続していますが、全身で MafB を欠損させたマウスは、生後すぐに死亡してしまうため、成体での MafB の働きはわかっていませんでした。

FSGS は、25 歳以下の若年発症者では約 3 割に遺伝素因があり、糸球体上皮細胞の単一遺伝子の異常が発病の原因となることが知られています<sup>参考文献 2)</sup>。近年、本研究グループは、ヒト MAFB の突然変異が FSGS の原因となることを報告<sup>参考文献 3)</sup>しました。

そこで今回、FSGS の発症における MafB の働きに注目して、糸球体上皮細胞の維持における MafB の機能解明を試みました。

## 研究内容と成果

本研究グループは、ヒトの代表的な糸球体疾患である微小変化型ネフローゼ症候群、IgA 腎症、FSGS、糖尿病性腎症の腎生検サンプルを用いて、MAFB の免疫染色を行いました。その結果、糸球体上皮細胞障害をきたす FSGS の患者サンプルにおいて、他疾患より MAFB 発現量が低下していました(図 1)。

続いて、成熟糸球体上皮細胞における MafB の機能を調べるために、ホルモン剤のタモキシフェンを投与すると糸球体上皮細胞でのみ MafB を欠損させることができる、特殊なマウス(コンディショナルノックアウトマウス)を作製しました。成体のコンディショナルノックアウトマウスにタモキシフェンを投与したところ、約 3 ヶ月で大量のタンパク尿が出現しました。4 ヶ月後には、腎機能障害が出現し、巣状分節性糸球体硬化症になっていました(図 2)。

糸球体硬化が起こる分子メカニズムを調べるため、上記のマウスの糸球体を単離して遺伝子解析したところ、Mafb だけでなく、尿タンパク漏出を防ぐスリット膜を構成する複数の遺伝子発現(Nphs1、Magi2)、および、糸球体上皮細胞特異的転写因子の遺伝子発現(Tcf21)が低下していました(図 3)。これらの 3 つの遺伝子は、ネフローゼ症候群の原因遺伝子であり、糸球体上皮細胞の機能維持に必須と考えられます。マウス腎組織の生化学的解析では、タンパク質レベルでもこれらの遺伝子発現が低下していました。これらの所見から、MAFB は糸球体上皮細胞の胎児期発達のみならず、成熟段階の機能維持にも必須であることがわかりました。

本研究グループはすでに、MafB を糸球体上皮細胞に過剰発現したマウスは糖尿病性腎症が軽減することを報告しており<sup>参考文献 4)</sup>、FSGS でも同様の MafB による腎保護作用が認められるかを調べました。FSGS を発症させたモデルマウスの解析では、MafB が糸球体上皮細胞に過剰発現したマウスでは、尿タンパクが減少して腎障害も軽減されました(図 4A)。また近年、本研究グループは、白血病治療薬でビタミン A 誘導体の一種であるオールトランスレチノイン酸(atRA)が、マクロファージ(白血球の一種)の細胞内に MafB を誘導することを報告しています<sup>参考文献 5)</sup>。そこで、マウスの糸球体上皮細胞株に atRA を投与したところ、MafB 発現量の上昇が見られました。同じく、マウスの実験においても、atRA を投与したマウスでは、腎臓の単離糸球体で MafB 発現量が上昇していました。興味深いことに、これらのマウスでは尿タンパクが減少し、腎障害も軽減していました。一方、前述の糸球体上皮細胞でのみ MafB を欠損させたコンディショナルノックアウトマウスでは、atRA を投与してもタンパク尿減少効果や腎障害改善効果がほとんど認められず、atRA のタンパク尿減少効果や腎保護効果は、MafB を介する作用であると考えられました。

以上のことから、1) MafB は腎系球体上皮細胞において、スリット膜などの遺伝子発現を調整しており、この機能維持に必須であること、2) 腎系球体上皮細胞で MafB を発現上昇させることで FSGS が軽減すること、が明らかになりました。これらの結果は、新しい FSGS の治療法開発の基盤になるものです。

**今後の展開**

本研究で、MafB の腎系球体上皮細胞機能維持における役割が解明され、特に既存の白血病治療薬 atRA の投与が、腎系球体上皮細胞に MafB 発現を誘導し、FSGS の進展を抑止する治療効果が示されました。atRA は、ヒトの一部の腎炎でのタンパク尿減少効果も症例報告されており、将来的に FSGS の治療薬としての再開発が進むと考えられます。また今後、MafB を分子ターゲットにした慢性腎臓病への個別化治療法の開発が期待されます。

**参考図**

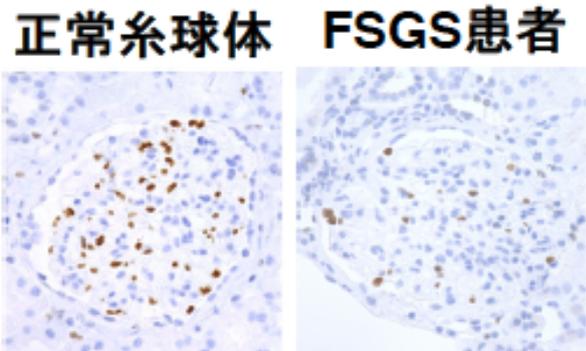


図 1 ヒト正(左)常、FSGS 患者(右)の糸球体における MAFB 発現  
腎生検パラフィン切片を用いて MAFB 発現を免疫染色で可視化し、光学顕微鏡で観察した。FSGS 患者の糸球体では、正常に比べて MAFB 陽性細胞数(茶褐色部分)が減少していた。

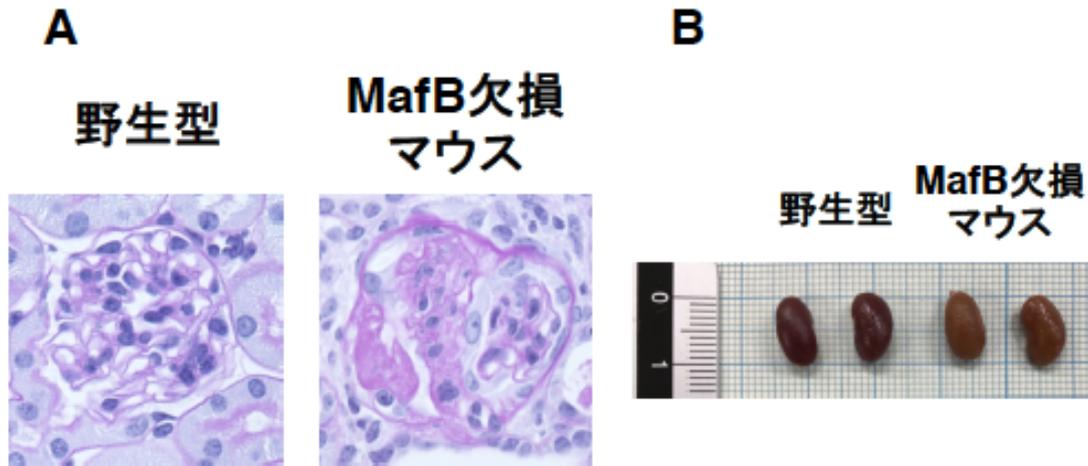


図 2 野生型および腎系球体上皮細胞特異的 MafB 欠損マウスの腎臓 (A: タモキシフェン投与 16 週後の顕微鏡像、B: 同 40 週後の外観)  
腎系球体上皮細胞特異的 MafB 欠損マウスの腎臓では、FSGS 様の腎障害を起こし(図 2A)、慢性腎不全により腎外観も黄色に変色していた(図 2B)。

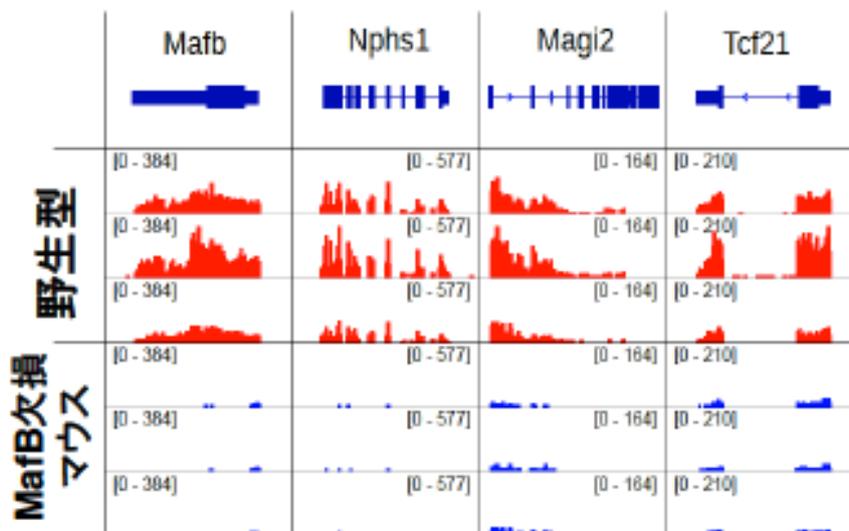


図 3 腎糸球体上皮細胞特異的 MafB 欠損マウスの糸球体遺伝子発現プロフィール  
 糸球体機能維持に必須の 4 遺伝子 Mafb, Nphs1, Magi2, Tcf21 の塩基配列構成(上段,青)と RNA シーケンス  
 でマップされる断片化 DNA 配列の数(ヒストグラム)を示す。  
 MafB 欠損マウスの糸球体では、Mafb の他に、ネフローゼ症候群の原因遺伝子として知られている 3 遺伝子(Nphs1、  
 Magi2、Tcf21)の発現が低下していた。

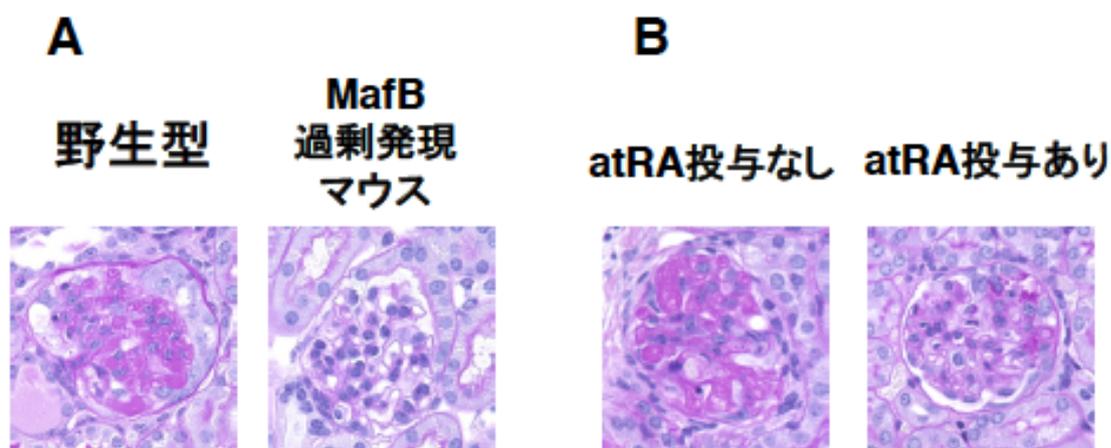


図 4 アドリアマイシン投与 2 週後の FSGS 腎障害モデルでの光顕糸球体病理像  
 (A:野生型マウスと MafB 過剰発現マウス)  
 (B:野生型マウスに atRA 投与なしのマウスと atRA 投与ありのマウス)  
 アドリアマイシン投与により、野生型マウスには FSGS 様腎障害(赤紫部分)が起こっているが、腎糸球体上皮細胞に  
 MafB が過剰発現しているマウスでは腎障害が軽減していた(図 4A)。同様に、atRA を投与した野生型マウスでも  
 腎障害の軽減が認められた(図 4B)。

## 用語解説

### 注 1) 糸球体上皮細胞(腎糸球体上皮細胞)

ヒトでは約 100 万個、マウスでは約 1 万個の糸球体が 1 つの腎臓に存在し、血液から老廃物を除去して、原尿を産生している。糸球体内部は無数の毛細血管があり、毛細血管の表面を覆っているのが、糸球体上皮細胞(腎糸球体上皮細胞)である。糸球体上皮細胞は、多くの足突起を分岐して糸球体毛細血管表面を覆い、その形態から「たこ足細胞」とも呼ばれる。足突起と足突起の間には、尿タンパクが漏れないためのバリア機能を果たすスリット膜という構造があり、細胞間接着分子 Nephrin などのタンパク質が主な構成成分となっている。

### 注 2) 巣状分節性糸球体硬化症 (FSGS: Focal Segmental Glomerulosclerosis)

腎糸球体濾過膜から大量のタンパク尿が漏れ出るネフローゼ症候群の原因となる代表的な疾患である。一般的にネフローゼ症候群の初期治療薬として用いられるステロイドの効果が乏しく、ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群になることが多い。糸球体上皮細胞の障害が原因で、患者の約半数が長期経過で末期腎不全に至る。若年発症者では、約 3 割に遺伝背景が関与し、糸球体上皮細胞の遺伝子うち、いずれかの単一遺伝子異常が、発病の原因となると報告されている。

### 注 3) 転写因子

ゲノム DNA の転写調節領域(プロモーター)の特定の部位に結合し、標的遺伝子のスイッチのオン/オフを行う。転写因子は DNA に結合する構造(DNA 結合ドメイン)によりいくつかの種類に分類される。MafB は、塩基性ロイシンジッパーと呼ばれる構造モチーフが特徴である。

### 注 4) オールトランスレチノイン酸(atRA)

ビタミン A 誘導体の一種で、日本では急性前骨髄性白血病の治療薬として用いられている。核内受容体の一種であるレチノイン酸受容体を活性化させることで、細胞内の MafB の発現量を上げる効果がある。

## 参考文献

- 1) Moriguchi T, Hamada M, Morito N, et al. MafB is essential for renal development and F4/80 expression in macrophages. *Mol Cell Biol.* 2006; 26: 5715–5727.
- 2) Sadowski CE, et al. A Single-Gene Cause in 29.5% of Cases of Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2015; 26: 1279–1289.
- 3) Sato Y, Tsukaguchi H, Morita H, et al. MAFB Mutation Causes Focal Segmental Glomerulosclerosis with Duane Retraction Syndrome. *Kidney Int.* 2018; 94: 396–407.
- 4) Morito N, Yoh K, Ojima M et al. Overexpression of MafB in podocytes protects against diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2014; 25: 2546–2557.
- 5) Tran MTN, Hamada M, Jeon H et al. MafB is a critical regulator of complement component C1q. *Nat Commun.* 2017; 8: 1700.

## 掲載論文

【題名】 Transcription factor MafB in podocytes protects against the development of focal segmental glomerulosclerosis.

(糸球体上皮細胞の転写因子 MafB は巣状分節性糸球体硬化症の発症を防いでいる。)

【掲載誌】 *Kidney International* (DOI: 10.1016/j.kint.2020.02.038)

本研究は、国立大学法人筑波大学医学医療系腎臓内科学(臼井俊明、森戸直記、臼井丈一、山縣邦弘、以下敬称略)、国立大学法人筑波大学医学医療系解剖学発生学(金井真帆、小島才明、浅野圭吾、今村優希、Manoj Kumar、綱川祐貴、岡田理沙、越田隆介、楊景堯、全孝静、久野朗広、濱田理人、工藤崇、高橋智)、国立大学法

人筑波大学医学医療系ゲノム生物学(村谷匡史)、学校法人昭和大学医学部内科学講座・腎臓内科学部門・藤が丘病院腎臓内科(佐藤芳憲、吉村吾志夫)、学校法人関西医科大学内科学第二講座(塚口裕康)、名古屋市立大学大学院医学研究科病態モデル医学分野(Hossam Shawki、大石久史)、京都大学大学院医学研究科腎臓内科学(横井秀基)、奈良県立医科大学臨床研究センター(笠原正登)との共同研究による成果です。

#### 問合わせ先

森戸 直記(もりと なおき)

筑波大学医学医療系 腎臓内科学 講師

〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1

E-mail: morito@md.tsukuba.ac.jp

Tel: 029-853-3206

高橋 智(たかはし さとる)

筑波大学医学医療系 解剖学・発生学 教授

〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1

E-mail: satoruta@md.tsukuba.ac.jp

Tel: 029-853-7516