



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                                                        |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | Study of genetic background-dependent diversity of renal failure caused by the tensin2 gene deficiency in the mouse [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s)           | 佐々木, 隼人                                                                                                                                                                                |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                                                                  |
| Degree Name         | 博士(獣医学)                                                                                                                                                                                |
| Dissertation Number | 甲第11738号                                                                                                                                                                               |
| Issue Date          | 2015-03-25                                                                                                                                                                             |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/59315">https://hdl.handle.net/2115/59315</a>                                                                                                      |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/</a>                                                              |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                                                        |
| File Information    | Hayato_Sasaki_abstract.pdf, 論文内容の要旨                                                                                                                                                    |



学位論文内容の要旨  
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：佐々木 隼人  
Name

学位論文題名  
The title of the doctoral dissertation

Study of genetic background-dependent diversity of renal failure caused  
by the tensin2 gene deficiency in the mouse

（マウスのテンシン 2 遺伝子欠損に起因する腎障害における遺伝学的背景の  
影響に関する研究）

慢性腎臓病（CKD）は腎障害や腎機能低下が長く続いている病態であり、疾患の種類・原因に関わらず、腎臓病の予後を診断する指標として重篤度が評価される。自覚症状はあまりなく、病態は通常、不可逆的に進行し、最終的に腎移植あるいは人工透析が必要となる末期腎不全に至る。末期腎不全患者は高齢化社会を背景に世界中で増えており、さらに CKD は糖尿病、高血圧、心疾患といった重要疾患と互いに危険因子の関係にある。これら重要疾患の予備軍と言える CKD の予防および治療はヒト医療における重大な課題の一つであるが、現在の治療法は危険因子を取り除くことや対症療法によって病態の進行を遅らせるだけで、抜本的な治療法は未だ確立されていない。一方、CKD の発症時期や重篤度には人種差があることが知られている。

ICGN マウスは ICR 系マウスの突然変異体由来し、加齢に伴って多くの CKD に認められる症状（蛋白尿、腎性貧血、浮腫）と病理的变化（糸球体上皮細胞足突起の異常、糸球体基底膜の肥厚、糸球体硬化症、腎臓の線維化）を呈し、最終的に末期腎不全となる。このような特徴から ICGN マウスは CKD のモデルマウスとして有用であり、その主な原因遺伝子は腎臓において糸球体上皮細胞及び近位尿細管に発現しているテンシン 2 の欠失変異であることが明らかになっている。テンシン 2 はアクチン線維とインテグリン  $\beta$  鎖に結合するマルチドメイン蛋白質であり、糸球体上皮細胞において細胞骨格の形成やインテグリンを介した細胞内シグナル伝達に関与している事が予想されているが、その機能は明らかでなく、その欠損（*nph* 変異）によって糸球体上皮細胞が変性する機序は不明である。そして、この *nph* 変異による腎症も他のいくつかの腎症や実験的腎症モデル同様に遺伝的背景を変えると重篤度が著しく軽減する場合がある。すなわち、*nph* 変異による腎症に対して抵抗性のマウス系統と感受性のマウス系統が存在する。このような系統差が生まれる原因には、その発症機序に修飾遺伝子が関与していることが示唆され、それらの遺伝的背景を比較することは修飾遺伝子の同定、さらには糸球体上皮細胞におけるテンシン 2 の機能解明につながると考えられる。

そこでまず第1章では、修飾遺伝子座をマッピングするため、抵抗性である C57BL/6J (B6) マウスと感受性である ICGN マウスの F<sub>1</sub> 個体を ICGN マウスに戻し交配し、*nph* 変異をホモに持つバッククロス個体群を用いて、腎性貧血、血液尿素窒素、糸球体傷害、尿細管間質傷害を量的形質にした全ゲノム連鎖解析を行った。その結果、複数の遺伝子座が重篤度に寄与していることが明らかとなり、第2染色体上に主要な修飾遺伝子座が存在することが示唆された。続いて、B6 由来の第2染色体を ICGN マウスに導入したコンソミックマウスを作製し、腎臓病評価を行った。野生型の ICGN マウスと比較してコンソミックマウスは、腎性貧血を示さず、尿細管及び間質傷害が著しく軽減、糸球体傷害（糸球体上皮細胞の変性と糸球体基底膜の肥厚）が軽度になり蛋白尿が有意に軽減していることから、第2染色体上に修飾遺伝子座が存在することが示された。しかし、抵抗性系統である B6 及び 129<sup>+Ter/SvJcl</sup> (129T) マウスに *nph* 変異を導入したコンジェニックマウスにおいては、蛋白尿そのものが検出されず、糸球体の超微細構造はほぼ正常であると報告されていることから、ICGN マウスに導入された第2染色体の領域による抵抗性の効果だけでは不十分であり、*nph* 変異に対して糸球体上皮細胞において直接的に効果を発揮する修飾遺伝子が他の領域に存在することが示唆された。また、コンソミックマウスにおいて軽減された蛋白尿は依然として重度でありながら、尿細管及び間質傷害は著しく軽減されていることから、第2染色体の領域による抵抗性の効果は主に CKD における尿細管および間質の線維化に対して働いていることが示唆された。

第2章では FVB/NJ (FVB) マウスに *nph* 変異を導入したコンジェニックマウスを作製及び解析し、FVB マウスが *nph* 変異に対して感受性であることを明らかにした。続いて、抵抗性のマウス2系統 (B6 及び 129T) と感受性のマウス3系統 (DBA/2J 及び FVB、ICGN) について比較解析を行った。まず、糸球体の遺伝子発現について、データベースから利用できる B6 及び D2、FVB マウスの糸球体の遺伝子発現データと、独自に行った B6 及び ICGN の非発症コントロール系統の糸球体の遺伝子発現データを用いて、抵抗性系統と感受性系統の間において発現量に差がある遺伝子を検索した。そして、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応によって 129T マウスを含めた5系統の糸球体で遺伝子発現を調べたところ、抵抗性系統と感受性系統の間で顕著に発現量の差が見られる遺伝子は検出されなかった。

次に糸球体上皮細胞に関連する遺伝子について、データベースの一塩基置換データと次世代シーケンサーを用いて、抵抗性系統と感受性系統によって分けられるミスセンス変異を検索したところ、15個の遺伝子が検出された。さらに配列相同性などによってアミノ酸置換の影響を予測するツールによって、4つの候補遺伝子が検出され、中でも細胞骨格の微小管に結合してこれを束ねる役割があるとされている KIF26A の690番目のアミノ酸は微小管に結合するサイトに位置し、感受性のマウス系統を除き、ヒトを含めた他の動物でよく保存されていた。

本研究により、連鎖解析によって示唆された B6 マウス由来の第2染色体の領域が *nph* 変異による腎症に対して抵抗性を示すことが証明された一方、糸球体上皮細胞において直接的に *nph* 変異に対して抵抗性を示す修飾遺伝子が他の領域に存在することが示唆された。そしてミスセンス変異の比較により、Kif26a 遺伝子とその第一候補として挙げられ、正常な KIF26A は *nph* 変異によって構造的に脆弱になった糸球体上皮細胞足突起を補強しているのではないかと推測された。本仮説を検証するため、さらなる研究が必要である。