

公募助成「腎不全病態研究助成」研究サマリー

研 究 名	腎性貧血と転写因子 Foxc1/2
所 属 機 関	東海大学医学部基盤診療学系臨床薬理学
氏 名	本島 英
<p>Foxc1 と Foxc2 (以降 Foxc1/2) の双方を、腎発生開始後に全身でコンディショナルノックアウトしたマウスは貧血を呈することを見出した。このとき Epo mRNA 発現量は貧血であるにもかかわらず野生型のそれと変わらなかったことから、腎間質に存在する Epo 産生細胞の分化が阻害されていると考えられた。Epo 産生細胞は、後腎間充織でネフロン前駆細胞を取り囲む間質前駆細胞 (Stromal progenitor: SP) から分化する。免疫染色により Foxc1/2 が SP にも発現することを確認し、これらの因子が Epo 産生細胞の分化に関与すると考えた。</p> <p>SP に発現する Foxc1/2 が Epo 産生細胞の分化に関わることを確認するために、Foxc1/2 を腎発生開始後に SP のみでコンディショナルノックアウトするマウスを作製すべく、Foxd1-GCE マウスと floxed Foxc1/2 マウスとを掛け合わせたが、貧血症状は確認できなかった。このマウスで、FACS によって Foxd1 陽性細胞を単離しようとしたが、EGFP の蛍光を発する細胞を検出できなかった。したがって Foxd1-GCE では GCE の発現量が著しく低いため Cre/loxP が働かず組換えが起こらなかったと考えられた。このことから SP 特異的に Foxc1/2 を欠損させる計画は頓挫した。</p> <p>SP から Epo 産生細胞への分化過程を明らかにするため、E18.5 の腎間質細胞を Pdgfrb 抗体で単離し、シングルセル RNA-Seq を行った。この実験は、先進ゲノム支援の援助により行われた。野生型とノックアウトでそれぞれ約 8800 個の細胞の RNA 発現データを得たが、Epo を発現する細胞は 1 個しかなく、Epo 産生細胞への分化経路は同定できなかった。野生型の細胞は、未分化な SP、細胞周期の各ステージにある SP、間質細胞への分化を開始した細胞、皮質部位の間質細胞、髄質部位の間質細胞、メサンギウムを含む血管平滑筋系統の細胞と思われるクラスターに分類された。これらのクラスターに Foxc1/2 ノックアウト細胞を対応付け、阻害された分化過程を明らかにすべく解析を行っている。全体的な発現量の比較では、Foxc1/2 ノックアウト細胞においては、Foxd1 の発現が著しく低下したので、Foxd1 の転写が Foxc1/2 によって制御されていると考えられる。したがって、Foxc1/2 コンディショナルノックアウトマウスにおいては SP の状態ですでに何らかの異常が起こっていることが示唆された。</p>	