

200500875A

厚生労働科学研究研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

新規腎障害分子USAG-1を標的とした腎不全回復療法の開発
に関する研究

平成17年度 総括／分担研究報告書

主任研究者 柳 田 素 子

平成18 (2006) 年 3 月

目 次

I. 構成員名簿	-----	1
II. 平成17年度総括研究報告書	-----	5
京都大学大学院医学研究科21世紀COE	COE助教授	柳田 素子
III. 分担研究報告書	-----	13
京都大学大学院医学研究科循環器内科学	教授	北 徹
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	19
V. 研究成果の刊行物・別刷	-----	25

I. 構成員名簿

班構成員

	研究者名	所属	職名
主任研究者	柳田素子	京都大学大学院医学研究科 21世紀COE	COE助教授
分担研究者	北 徹	京都大学大学院医学研究科 循環器内科	教授
研究協力者	柳沢正史	JST ERATO柳沢プロジェクト ハワードヒューズ財団テキサス大	プロジェクトリ ーダー 教授
経理事務 担当者	小出 三栄	京都大学医学研究科研究協力掛	事務

II. 平成17年度総括研究報告書

新規腎障害分子USAG-1を標的とした腎不全回復療法の開発

主任研究者 柳田素子 京都大学大学院医学研究科21世紀COE

研究要旨

当研究課題では、申請者が最近見出した腎臓特異的 BMP 拮抗分子 USAG-1 の生体内の役割を明らかにし、その知見を元に新しいタイプの腎疾患治療薬開発の可能性を探ることを目的とする。

糖尿病性腎症の増加に伴い腎不全患者は年々増加しており治療薬の開発は急務であるが、従来の治療薬は予防的側面が強く、腎不全に陥った腎臓は治療不可能と考えられてきた。

一方で骨形成因子の一つである BMP-7(Bone Morphogenetic Protein)は腎発生に必須の因子であり、生後も腎臓に最も多く発現しているがその機能は明らかではなかった。近年、腎疾患モデルに対して外来性に BMP-7 を投与すると、障害尿細管が修復され、低下した腎機能が回復することが報告されたが、これは腎不全からの回復という点で画期的である。

申請者は新規腎臓特異的BMP拮抗分子USAG-1を見出したが、この分子は腎修復因子BMP-7に直接結合して受容体への結合を阻害することでその機能を抑制する。またその発現部位がBMP-7と一致していることから、USAG-1が生体内でもBMP-7の作用を調節しており、腎疾患においてはactive BMP-7を減らすことでその修復作用を阻害している可能性がある。

本研究課題では既に作成したUSAG-1遺伝子欠損マウスに各種腎疾患モデルを導入することで生体内のBMP-7とUSAG-1の相互作用を明らかにし、BMP-7による腎保護修復作用の本体を解明すると同時に、USAG-1の中和抗体を作成し、その腎疾患治療薬としての可能性を検証したい。

当研究課題にてその有効性が証明された場合には、ヒューマナイズド USAG-1 中和抗体や USAG-1/BMP-7 結合阻害剤がヒト腎疾患治療薬としてきわめて有望となる。そのような薬剤は従来の予防的薬剤と異なり、腎不全を元の状態に回復させることができる可能性が高く、透析導入患者数を大幅に減少させ、腎不全患者の QOL を著しく改善させると考えられる。さらに USAG-1 の発現は腎臓に特異的なため USAG-1 をターゲットにした薬剤は BMP-7 自体の投与よりも副作用が少なく、長期的に投与可能であろうと予想される。

分担研究者
北 徹
京都大学大学院医学研究科
循環器内科 教授

研究協力者
柳沢 正史
ハワードヒューズ研究員
テキサスサウスウエスタン大学教授

A. 研究目的

当研究課題では、申請者が最近見出した腎臓特異的 BMP 拮抗分子 USAG-1 の生体内の役割を明らかにし、その知見を元に新しいタイプの腎疾患治療薬開発の可能性を探ることを目的とする。

前述のように腎不全を回復させる薬剤は未だ見つかっていない。唯一 BMP-7 は動物実験レベルでは腎不全に陥った腎臓を回復させる可能性が示唆されているが、BMP-7 自体を腎疾患治療薬として用いるには、注射部位の骨化や他臓器における副作用など、実用化に向けて障壁が多い。一方、申請者が見いだした新規 BMP 拮抗分子 USAG-1 は BMP-7 に対する抑制活性が強く、その発現が腎臓に限局し、腎臓における局在も BMP-7 と完全に一致する。以上のことから申請者は『USAG-1 が腎における BMP-7 の調節因子であり、腎疾患の際には active BMP-7 の量を低下させることによって BMP-7 の腎修復機能を阻害する』という仮説をたてた。(図 1)

もしこの仮説が正しければ、USAG-1 の中和抗体や USAG-1/BMP-7 の結合阻害剤は active BMP-7 を増加させ、その腎修復作用を増強すると考えられる。(図 2)

(短期的目標)

当研究課題では、この仮説を検証するために、既に作成した USAG-1 遺伝子欠損マウス(以後 KO)に各種腎疾患モデルを導入し、腎障害における BMP-7/USAG-1 の役割を明らかにする。さらに USAG-1 に

対する中和抗体を作成し、その腎疾患治療薬としての可能性について、動物モデルを用いて検証する。

(長期的目標)

当研究課題にてその仮説が正しいことが証明された場合には、ヒューマニズド USAG-1 中和抗体や低分子の USAG-1/BMP-7 結合阻害剤が腎疾患治療薬としてきわめて有望となる。またそのような薬剤は従来の予防的薬剤とは異なり、腎不全を元の状態に戻すことができる可能性が高く、透析導入患者数を大幅に減少させ、腎不全患者の QOL を著しく改善させると考えられる。さらに USAG-1 の発現が腎臓特異的であるため、USAG-1 の機能を抑制し“active BMP-7”を増加させる薬剤のほうが、BMP-7 自体の投与よりも副作用が少なく、長期的に投与可能であろうと予想される。

B. 研究方法

当研究課題では『USAG-1 が腎における BMP-7 の調節因子であり、腎疾患の際には active BMP-7 の量を低下させることによって BMP-7 の腎修復機能を阻害する』という仮説を検証するため以下の実験を行った。

- (1) USAG-1 遺伝子欠損マウス (以後 KO) の発生活理的フェノタイプを解析した後に各種腎疾患モデルを惹起し、病変形成および修復過程を野生型と比較検討する。
- (2) 臨床医学への展開をより現実的にするために、USAG-1 の中和抗体を作成し、その腎疾患治療薬としての可能性を検証する。
- (3) 倫理面への配慮

マウスを用いる実験は、苦痛負荷は含まず、手術・屠殺は麻酔下に施行する。動物実験計画はすべて京都大学医学部動物実験委員会の承認を得て行う。

C. 研究結果

申請者は腎特異的遺伝子の探索の過程で新規分泌蛋白であるUSAG-1を見だし、USAG-1がBMP拮抗分子として働くことを証明した。さらにUSAG-1の発現が腎臓特異的で腎臓内の局在がBMP-7と完全に一致することから「USAG-1が生体内においてもBMP-7の腎保護修復作用を修飾している」という仮説をたてた。(図1)平成17年度はこの仮説を証明するためにUSAG-1ノックアウトマウス(以後KO)を作成し、抗がん剤シスプラチンによる急性腎不全モデル、一側尿管結紮による間質性腎炎モデルを惹起した。シスプラチンによる急性腎不全モデルを惹起されたKOは野生型マウスに比して生存率が高く、腎機能障害および組織障害、尿管細胞のアポトーシスや炎症性サイトカイン産生が軽微であった。(図3)また一側尿管結紮による間質性腎炎モデルを惹起したKOは野生型マウスに比して間質の線維化が軽微であった。以前の報告によると、大量のBMP-7の投与によって炎症性サイトカイン産生や間質の線維化が抑制されることが報告されており、KOのフェノタイプは過剰なBMPシグナルによるものではないかと予想された。そこでBMPの下流のシグナルであるSmad1/5/8のリン酸化をKOおよび野生型マウスで検証したところ、KOでは野生型マウスに比べてBMPシグナルが増強していることが明らかとなった。さらにKOに上記の腎障害モデルを惹起した上でBMP-7の中和抗体を投与するとKOの腎障害抵抗性が消失することから、増強しているBMPシグナルの少なくとも一部分はBMP-7によるものであることを明らかにした。以上の結果から上記の仮説が正しいことが検証され、USAG-1の中和抗体や発現抑制剤には腎疾患治療薬としての可能性があることが明らかとなった。(図2)USAG-1の発現は腎臓特異的であることからこのような薬剤はBMP-7よりも副作用が少ないと予想される。

17年度には、この知見をもとにUSAG-1の

中和抗体を作成する目的で、抗体作成に定評のあるキリンビール医薬探索研究所と共同研究を開始し抗原の精製に着手した。既に中和活性のアッセイ系は確立しており、今後KOにUSAG-1を免疫し、効率よく抗体を産生させる予定である。中和抗体ができた際にはそれをシスプラチン腎症や虚血再還流モデル、一側尿管結紮モデルなどの腎疾患モデルに投与することによって腎疾患治療薬としての可能性を検証したい。その結果有望な場合には、ヒト腎疾患治療薬としての可能性があることから、ヒューマナイズドUSAG-1中和抗体の作成を行う。キリンビール医薬探索研究所ではマウスゲノム上のイムノグロブリンlocusにヒトイムノグロブリンをノックインしたマウスを保有しており、このノックインマウスとUSAG-1ノックアウトマウスを交配したマウスにUSAG-1を免疫することによって完全にヒト型の抗USAG-1中和抗体の産生が可能となる。これは従来のFc部位のみがヒト型であるキメラヒューマナイズド抗体よりもはるかに副作用が少ないと予想される。

D. 結論、考察

上記のように申請者はUSAG-1 KOを用いた解析から、USAG-1が生体内でBMP-7の作用を調節しており、腎疾患においてはBMP-7の機能を抑制することでその修復作用を阻害しているという仮説を証明した。さらに申請者はUSAG-1が腎臓に発現するBMP拮抗分子の中で最も発現が多く、その局在がBMP-7と一致していることを証明しておりUSAG-1がBMP-7の腎修復機構を調節する中心的な因子であると考えられる。以上のことから、USAG-1とBMP-7の結合阻害剤には腎疾患治療薬としての可能性が高い。BMP-7と異なり、USAG-1の発現は腎特異的であることから、そういった薬剤は副作用の可能性も少なく、作用が腎臓に限定すると予測される。

E. 健康危険情報

該当事項なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

1 Yanagita M, Endo S, Takahashi K, Okuda T, Sugiyama F, Kunita S, Takahashi S, Fukatsu A, Kita T & Sakurai T:

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

Journal of Clinical Investigation 116:70-9, 2006.

2 Yanagita M

Uterine Sensitization Associated Gene-1 (USAG-1): Modulator of Bone Morphogenetic Protein Activity in the Kidney.

Kidney Int. in press.

3 Yanagita M

BMP antagonists: their roles in development and involvement in pathophysiology.

Cytokine Growth Factor Rev. 16:309-17, 2005.

4 Yanagita M

Uterine Sensitization Associated Gene-1 (USAG-1): A Bone Morphogenetic Protein Antagonist with a Role in Kidney. In *Transforming Growth Factor-beta in Cancer Therapy*. Sonia B. Jakowlew, the editor. Beverly Teicher's Methods in Molecular Biology series on Cancer Drug Discovery and Development. (invited review in textbook; in press)

5 Nagai K, Matsubara T, Mima A, Sumi E, Kanamori H, Iehara N, Fukatsu A, Yanagita M, Nakano T, Ishimoto Y, Kita T, Doi T & Arai H. Gas6 induces Akt/mTOR-mediated mesangial hypertrophy in diabetic nephropathy.

Kidney Int. 68:552-61, 2005

6 Sawabu T, Seno H, Kawashima T, Fukuda A, Uenoyama Y, Kawada M, Kanda N, Sekikawa A, Fukui H, Yanagita M, Yoshiyoshi H, Satoh S, Sakai Y, Nakano T & Chiba T.

Growth arrest-specific gene 6 and Axl signaling enhances gastric cancer cell survival

via Akt pathway. Molecular Carcinogenesis in press.

2. 学会発表

1 Yanagita M. Therapeutic targets of kidney diseases. Lessons from Gas6 and USAG-1. 2005年1月15日 Columbia University College of Physicians and Surgeons, Department of Medicineの招聘講演、NY, USA

2 Yanagita M. USAG-1: a BMP antagonist abundantly expressed in the kidney. Keystone symposium. 2005年3月20日 Keystone, USA

3 Yanagita M. USAG-1, a novel BMP antagonist abundantly expressed in the kidney, exacerbates renal injuries. American Society of Nephrology Meeting. 2005年11月11日 Philadelphia, USA

4 Yanagita M. Therapeutic targets of kidney diseases. Lessons from Gas6 and USAG-1. 2005年11月14日 Harvard Medical School, Renal divisionでの招聘講演、Boston, USA

5 Yanagita M. Therapeutic targets of kidney diseases. Lessons from Gas6 and USAG-1. 2006年2月27日 Genzyme corporationの招聘講演、Framingham, USA

6 柳田素子、腎疾患進展増悪における新規 BMP拮抗分子USAG-1の機能解析 2005年6月24日 日本腎臓学会総会、横浜、日本

7 柳田素子、新規腎障害分子USAG-1を標的とした腎不全回復療法の開発 2005年7月22日 臨床分子医学会、京都、日本

8 柳田素子、腎疾患進展増悪における新規 BMP拮抗分子USAG-1の機能解析 2005年12月8日 分子生物学会、福岡、日本

9 柳田素子、Uterine sensitization associated gene-1 (USAG-1), a novel BMP antagonist

expressed in the kidney, accelerates tubular injury. 2006年2月4日、Workshop on immunology, cancer and aging. 京都、日本

G. 知的財産権の出願、登録状況
なし

図 1

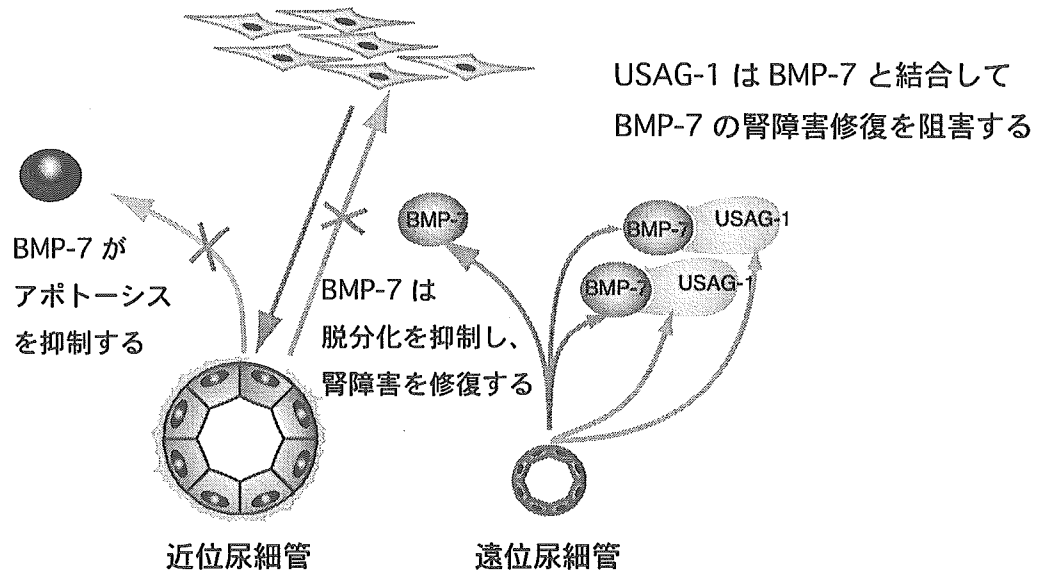


図 2

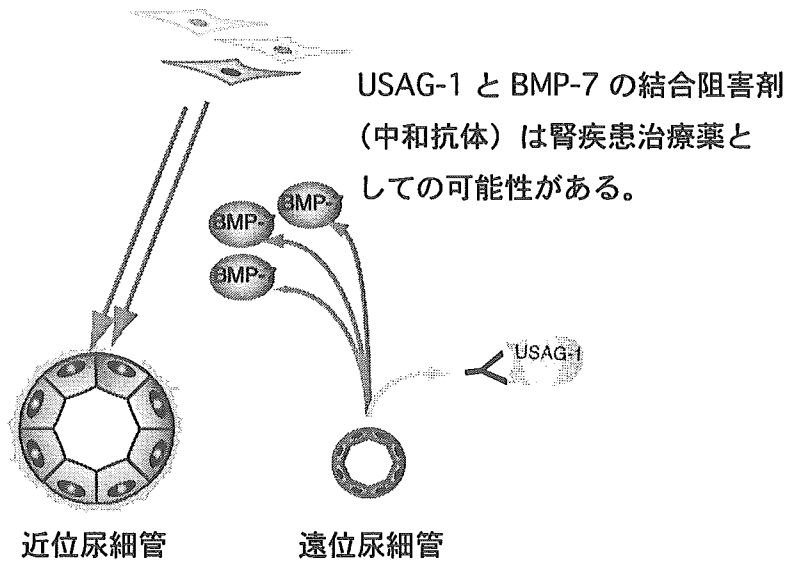
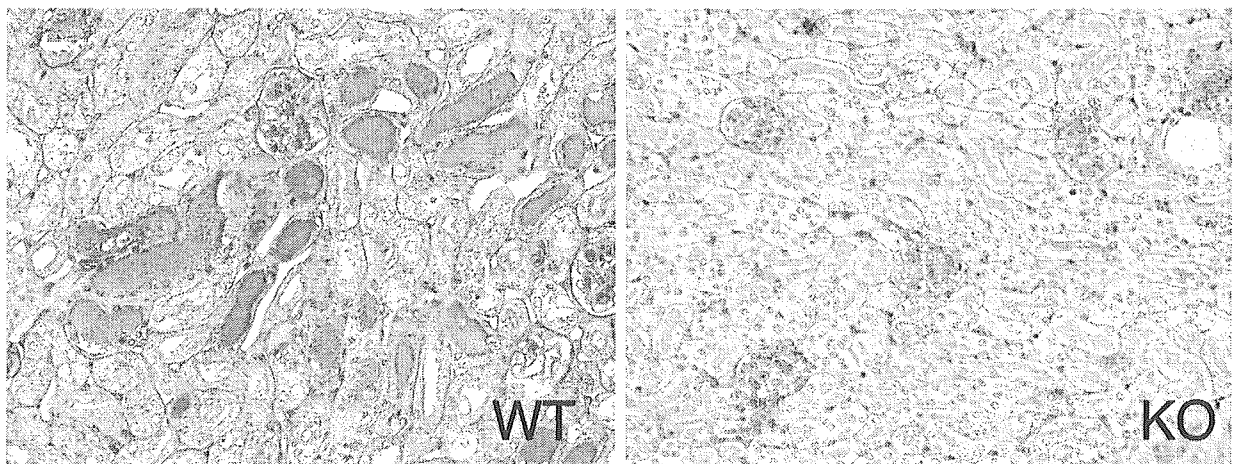


図 3



USAG-1 KO マウスの表現型。抗がん剤シスプラチンによる急性腎不全モデルを惹起すると、USAG-1 KO マウスは野生型マウス (WT) に比して腎障害に抵抗性であった。

III. 平成17年度分担研究報告書

腎特異的新規BMP拮抗分子USAG-1の発現解析

分担研究者 北 徹 京都大学大学院医学研究科循環器内科 教授

近年腎疾患モデルにBMP-7(Bone Morphogenetic Protein-7)を投与すると障害尿細管が修復されると報告されたが、その作用は腎臓に限局せず副作用が懸念される。我々は新規腎臓特異的BMP拮抗分子USAG-1 (Uterine Sensitization-Associated Gene 1)を見だし、USAG-1KOマウスが腎障害抵抗性であることを報告した。USAG-1はBMP-7の腎障害修復機能を抑制していると考えられることから、USAG-1の発現抑制剤には腎疾患治療薬としての可能性があり、USAG-1の発現が腎臓に限局するため副作用の可能性も低い。以上のことからUSAG-1の発現制御機構の解明は重要な課題である。

我々は腎障害、腎癌、腎発生、細胞の分化/脱分化におけるUSAG-1の発現変化を解析し、その制御機構を検証した。その結果、USAG-1はBMP拮抗分子の中で腎臓での発現が最も多いこと、その発現が尿細管障害モデル、腎癌で低下すること、腎の発生段階では尿細管の分化に伴い発現が増加することが明らかとなった。さらに初代培養尿細管細胞を脱分化させるとUSAG-1の発現は低下した。以上のことからUSAG-1の発現は尿細管の分化度と密接な関連があると考えられる。さらに前述の初代培養尿細管細胞を用いた系でUSAG-1の発現誘導因子をいくつか同定しており、USAG-1の発現抑制剤開発に結びつく知見と考えられる。

A. 研究目的

当研究課題では、主任研究者が最近見出した腎臓特異的BMP拮抗分子USAG-1の生体内の役割を明らかにし、その知見を元に新しいタイプの腎疾患治療薬開発の可能性を探ることを目的とする。

前述のようにBMP-7は腎不全回復剤として唯一の候補であるが、作用が腎臓に限局せず広範な副作用が問題である。

一方、主任研究者が見いだした新規BMP拮抗分子USAG-1はBMP-7に対する抑制活性が強く、その発現が腎臓に限局している。

主任研究者は平成17年度にUSAG-1ノック

アウトマウス（以後KO）を作成し、KOが野生型に比して腎疾患抵抗性が強いこと、この腎疾患抵抗性はBMP-7の作用増強を介したものであることを明らかにし、USAG-1が生体内においてBMP-7の腎修復機能の阻害因子として働くことを証明した。

この結果からUSAG-1の発現抑制物質には腎疾患治療薬としての可能性があることが明らかとなった。（総括研究報告書の添付図2参照）。こういった薬剤は従来の予防的薬剤とは異なり、腎不全を元の状態に戻すことができる可能性が高く、透析導入患者数を大幅に減少させ、腎不全患者のQOLを著しく改善させると考え

られる。さらにUSAG-1の発現が腎臓に限局することからBMP-7自体の投与よりも副作用が少ないことが予想される。当研究課題では、USAG-1の発現制御機構についても明らかにすると同時にBMP-7の発現を増加させ、USAG-1の発現を減少させるようなcompoundをスクリーニングしたいと考えている。

B. 研究方法

我々は腎障害、腎癌、腎発生、細胞の分化/脱分化におけるUSAG-1の発現制御機構を検証するため、以下の実験を行った。

- (1) 腎臓におけるBMP拮抗分子の発現量およびその局在の比較
- (2) 腎癌を含む各種腎疾患モデルにおけるUSAG-1の発現制御機構の解析
- (3) 腎発生段階におけるUSAG-1の発現解析
- (4) 初代培養尿細管細胞を用いたUSAG-1の発現制御因子の同定
(倫理面への配慮)

マウスを用いる実験は、苦痛負荷は含まず、手術・屠殺は麻酔下に施行する。動物実験計画はすべて京都大学医学部動物実験委員会の承認を得て行う。

C. 結果および考察

その結果、USAG-1はBMP拮抗分子の中で腎臓での発現が最も多いこと、その局在がBMP-7と一致するのは、USAG-1とTwisted gastrulationのみであること、その発現が尿細管障害モデル、腎癌で低下すること、腎の発生段階では尿細管の分化に伴い発現が増加することが明らかとなった。さらに初代培養尿細管細胞を脱分化させるとUSAG-1の発現は低下した。

以上のことからUSAG-1の発現は尿細管の分化度と密接な関連があると考えられる。さらに前述の初代培養尿細管細胞を用いた系でUSAG-1の発現誘導因子をいくつか同定しており、USAG-1の発現抑制剤開発に結びつく知見と考えられる。

D. 研究発表

1. Takahashi T, Abe H, Arai H, Matsubara T, Nagai K, Matsuura M, Iehara N, Yokode M, Ni shikawa S, Kita T, and Doi T: Activation of ST AT3/Smad1 is a key signaling pathway for pr ogression to glomerulosclerosis in experimenta l glomerulonephritis. *J Biol Chem* 280:7100-71 06, 2005.
2. Nagai K, Matsubara T, Mima A, Sumi E, Ka namori H, Iehara N, Fukatsu A, Yanagita M, N akano T, Ishimoto Y, Kita T, Doi T, and Arai H. Gas6 induces Akt/mTOR-mediated mesangi al hypertrophy in diabetic nephropathy. *Kidney International*. 68(2):552-561,2005
3. Zhuge X, Murayama T, Arai H, Yamauchi R, Tanaka M, Shimaoka T, Yonehara S, Kume N, Yokode M, Kita T: CXCL16 is a novel angiog enic factor for human umbilical vein endothelia l cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 331 (4):1295-1300, 2005
4. Tanaka M, Arai H, Liu N, Nogaki F, Nomur a K, Kasuno K, Oida E, Kita T, and Ono T: Rol e of coagulation factor Xa and protease-activat ed receptor 2 in human mesangial cell prolifera tion. *Kidney Int*.67(6):2123-2133,2005
5. Nogaki F, Oida E, Kamata T, Kobayashi I, Nomura K, Suyama K, Tahara S, Ono T, Miya waki S, Serikawa T, Yoshida H, Kita T, Muso E: Chromosomal mapping of hyperserum IgA and glomerular IgA deposition in a high IgA (H IGA) strain of DdY mice. *Kidney Int*. 68(6):25 17-2525, 2005
6. Kikuchi M, Fujimoto S, Fukae H, Kinoshita H, Kita T, Nakazato M, Eto T: Role of uroguan ylin, a Peptide with natriuretic activity, in rats with experimental nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 16(2):392-397, 2005
7. Matsubara T, Abe H, Arai H, Nagai K, Mima A, Kanamori H, Sumi E, Takahashi T, Matsuu ra M, Iehara N, Fukatsu A, Kita T, Doi T: Expr ession of Smad1 is directly associated with mes angial matrix expansion in rat diabetic nephrop athy. *Lab Invest*. 86(4):357-368, 2006
8. Yanagita M, Okuda T, Endo S, Tanaka M, T

akahashi K, Sugiyama F, Kunita S, Takahashi S, Fukatsu A, Yanagisawa M, Kita T, Sakurai T: Uterine sensitization-associated gene-1 (USAG-1), a novel BMP antagonist expressed in the kidney, accelerates tubular injury. *J Clin Invest*. 116(1):70-79, 2006

9. Miura M, Hata Y, Hirayama K, Kita T, Noda Y, Fujisawa K, Shimokawa H, Ishibashi T: Critical role of the Rho-kinase pathway in TGF-beta2-dependent collagen gel contraction by retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res*. 2006 82(5):849-859, 2006

10. Ito-Ihara T, Ono T, Nogaki F, Suyama K, Tanaka M, Yonemoto S, Fukatsu A, Kita T, Suzuki K, Muso E: Clinical efficacy of intravenous immunoglobulin for patients with MPO-ANCA-associated rapidly progressive glomerulonephritis. *Nephron Clin Pract*. 102(1):c35-42, 2006

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

1 Yanagita M, Endo S, Takahashi K, Okuda T, Sugiyama F, Kunita S, Takahashi S, Fukatsu A, Kita T & Sakurai T:

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

Journal of Clinical Investigation 116:70-9, 2006.

2 Yanagita M

Uterine Sensitization Associated Gene-1 (USAG-1): Modulator of Bone Morphogenetic Protein Activity in the Kidney.

Kidney Int. in press.

3 Yanagita M

BMP antagonists: their roles in development and involvement in pathophysiology.

Cytokine Growth Factor Rev. 16:309-17, 2005.

4 Yanagita M

Uterine Sensitization Associated Gene-1 (USAG-1): A Bone Morphogenetic Protein Antagonist with a Role in Kidney. In *Transforming Growth Factor-beta in Cancer Therapy*. Sonia B.

Jakowlew, the editor. Beverly Teicher's Methods in Molecular Biology series on Cancer Drug Discovery and Development. (invited review in textbook; in press)

5 Nagai K, Matsubara T, Mima A, Sumi E, Kanamori H, Iehara N, Fukatsu A, Yanagita M, Nakano T, Ishimoto Y, Kita T, Doi T & Arai H. Gas6 induces Akt/mTOR-mediated mesangial hypertrophy in diabetic nephropathy.

Kidney Int. 68:552-61, 2005

6 Sawabu T, Seno H, Kawashima T, Fukuda A, Uenoyama Y, Kawada M, Kanda N, Sekikawa A, Fukui H, Yanagita M, Yoshibayashi H, Satoh S, Sakai Y, Nakano T & Chiba T.

Growth arrest-specific gene 6 and Axl signaling enhances gastric cancer cell survival via Akt pathway. Molecular Carcinogenesis in press.

7. Takahashi T, Abe H, Arai H, Matsubara T, Nagai K, Matsuura M, Iehara N, Yokode M, Nishikawa S, Kita T, and Doi T: Activation of STAT3/Smad1 is a key signaling pathway for progression to glomerulosclerosis in experimental glomerulonephritis. *J Biol Chem* 280:7100-7106, 2005.

8. Zhuge X, Murayama T, Arai H, Yamauchi R, Tanaka M, Shimaoka T, Yonehara S, Kume N, Yokode M, Kita T: CXCL16 is a novel angiogenic factor for human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 331(4):1295-1300, 2005

9. Tanaka M, Arai H, Liu N, Nogaki F, Nomura K, Kasuno K, Oida E, Kita T, and Ono T: Role of coagulation factor Xa and protease-activated receptor 2 in human mesangial cell proliferation. *Kidney Int.* 67(6):2123-2133, 2005

10. Nogaki F, Oida E, Kamata T, Kobayashi I, Nomura K, Suyama K, Tahara S, Ono T, Miyawaki S, Serikawa T, Yoshida H, Kita T, Muso E: Chromosomal mapping of hyperalbuminemic IgA and glomerular IgA deposition in a high IgA (HIGA) strain of DdY mice. *Kidney Int.* 68(6):2517-2525, 2005

11. Kikuchi M, Fujimoto S, Fukae H, Kinoshita H, Kita T, Nakazato M, Eto T: Role of uroguanylin, a Peptide with natriuretic activity, in rats with experimental nephrotic syndrome. *J Am Soc Ne*

phrol. 16(2):392-397, 2005

12. Matsubara T, Abe H, Arai H, Nagai K, Mima A, Kanamori H, Sumi E, Takahashi T, Matsuura M, Iehara N, Fukatsu A, Kita T, Doi T: Expression of Smad1 is directly associated with mesangial matrix expansion in rat diabetic nephropathy. *Lab Invest.* 86(4):357-368, 2006

13. Miura M, Hata Y, Hirayama K, Kita T, Noda Y, Fujisawa K, Shimokawa H, Ishibashi T: Critical role of the Rho-kinase pathway in TGF-beta2-dependent collagen gel contraction by retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res.* 2006 82(5):849-859, 2006

14. Ito-Ihara T, Ono T, Nogaki F, Suyama K, Tanaka M, Yonemoto S, Fukatsu A, Kita T, Suzuki K, Muso E: Clinical efficacy of intravenous immunoglobulin for patients with MPO-ANCA-associated rapidly progressive glomerulonephritis. *Nephron Clin Pract.* 102(1):c35-42, 2006

補遺

朝日新聞東京版2005年12月16日に

『腎機能回復の仕組みを解明 BMPで京大チーム』と掲載。

Kidney International誌上のJournal ClubにてJCIに掲載された文献1が紹介された。

Kidney International (2006) 69, 792–793. doi:10.1038/sj.ki.5000274

How does nephrocystin get into cilia?

An exciting recent development is the discovery that many mutations that cause polycystic kidney disease in humans and animals are in proteins that are localized to cilia or flagella. But how do these proteins get to the cilia? The cell contains a structure located at the base of the cilia, and proteins destined to enter the cilia must be targeted to this basal body. The identification of several proteins mutated in medullary cystic disease (nephronophthisis), the most common cystic disease of children, showed that most are localized to cilia or basal bodies. In a recent study, Schermer *et al.* showed that nephrocystin, a ciliary protein mutated in nephronophthisis type 1, is expressed in respiratory epithelial cells and accumulates at the base of cilia, overlapping with markers of the basal body area and transition zone. The protein includes Src homology 3 domains in its structure, suggesting that it might interact with tyrosine-phosphorylated proteins. The authors showed that nephrocystin interacts with phosphofurin acidic cluster sorting protein 1 (PACS-1). Casein kinase 2-mediated phosphorylation of three critical serine residues within a cluster of acidic amino acids in nephrocystin mediates PACS-1 binding and is essential for colocalization of nephrocystin with PACS-1 at the base of cilia. Inhibition of casein kinase 2 activity abrogates this interaction and results in the loss of correct nephrocystin targeting. These data suggest that casein kinase 2-dependent transport processes represent a novel pathway for targeting proteins to the cilia. It is important to examine whether this is a general phenomenon — that is, whether casein kinase 2 is required to phosphorylate all proteins destined to go to the basal body. If so, this phenomenon will be a major discovery in the cell biology of ciliogenesis. (*EMBO J* 2005; 24: 4415–4424)

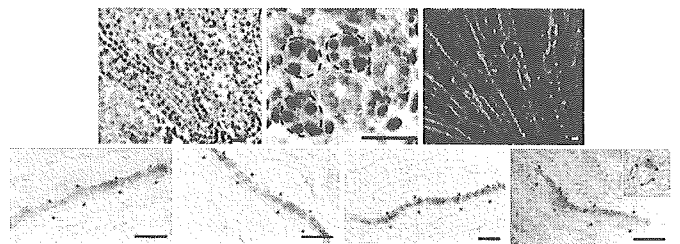
Qais Al-Awqati

Defective planar cell polarity in polycystic kidney disease

Planar cell polarity (PCP) was first discovered in fruit flies, wherein it was found that the hair spicules in the fly were oriented in one direction and that some mutations disrupted the direction in which these hairs were pointing. Other studies showed the same phenomenon in the hair cells of the inner ear. The idea behind PCP is that an epithelial sheet or tubule (such as the renal tubule or gastrointestinal tract) is not uniform in the X–Y plane; rather, there is some characteristic that makes the ‘proximal’ cell different from the ‘distal’ one. An additional characteristic of PCP is that when cells in the epithelial sheets divide, the axis of division of the separating chromosomes is a critical determinant of

organ shape and size. Yet, other than the fact that the kidney has sheets of epithelia, there has not been any evidence for a program of PCP until recently. In a study reported in *Nature Genetics*, Fischer *et al.* investigated the lengthening of renal tubules. They found that mitotic orientation of the dividing epithelial cells was parallel to the long axis of the tubule, demonstrating intrinsic planar cell polarization. Further, they studied a mouse model of polycystic kidney disease and found that mitotic orientations were significantly distorted in polycystic kidney disease even in the tubules before they became cystic. These results suggest that oriented cell division dictates the maintenance of constant tubule diameter during tubular lengthening, and that defects in this process trigger renal tubular enlargement and cyst formation. (*Nature Genet* 2006; 38: 21–23)

Qais Al-Awqati



Obesity is linked to risk for end-stage renal disease

The relationship between obesity and kidney disease has been established, but this has been primarily done with the inclusion of diabetes and other risk factors. Few epidemiologic studies have examined whether being overweight is an independent risk factor for end-stage renal disease (ESRD). Previous studies with kidney biopsies found that obesity was associated with an increase in the incidence of glomerulopathy. Now, in a new study, Hsu and colleagues have found that obesity is associated with ESRD independent of other risk factors. The authors studied a historical cohort in 320 252 adult members of Kaiser Permanente. Members of this large integrated health-care delivery system in northern California volunteered for screening health checkups between 1964 and 1985 and had their height and weight measured. The authors found ESRD cases by matching data with the United States Renal Data System registry through 2000. A total of 1471 cases of ESRD occurred during the 8 347 955 person-years of follow-up. Higher weight was a risk factor for ESRD in multivariate models that adjusted for age, sex, race, education level, smoking status, history of myocardial infarction, serum cholesterol level, urinalysis proteinuria, urinalysis hematuria, and serum creatinine level. Compared

with persons who had normal weight (body mass index [BMI], 18.5–24.9 kg/m²), the adjusted relative risk for ESRD was 1.87 (95% confidence interval [CI], 1.64–2.14) for those who were overweight (BMI, 25.0–29.9 kg/m²), 3.57 (CI, 3.05–4.18) for those with class I obesity (BMI, 30.0–34.9 kg/m²), 6.12 (CI, 4.97–7.54) for those with class II obesity (BMI, 35.0–39.9 kg/m²), and 7.07 (CI, 5.37–9.31) for those with extreme obesity (BMI ≥40 kg/m²). Higher BMI at baseline remained an independent predictor for ESRD after adjustment for baseline blood pressure level and diabetes. The study was limited in that primary analyses were based on single measurements of exposures, but it strongly suggests that obesity is a risk factor for ESRD. (*Ann Intern Med* 2006; 144: 21–28)

Lawrence Hunsicker

Cisplatin nephrotoxicity is mediated via the human organic cation transporter 2

The mechanism of the nephrotoxicity of the antineoplastic agent cisplatin remains unclear. In an article in the *American Journal of Pathology*, Ciarimboli *et al.* clearly identify the human organic cation transporter 2 (hOCT2) as the critical mediator for cisplatin nephrotoxicity in isolated human proximal tubules and offer a potential mechanism for reducing nephrotoxicity in clinical practice. Interaction of cisplatin with hOCT2 (expressed in the kidney) or hOCT1 (expressed in the liver) was investigated with the fluorescent cation 4-[4-(dimethylamino)styryl]-methylpyridinium in stably transfected HEK293 cells and in tissues physiologically expressing these transporters, human proximal tubules, and human hepatocyte couplets, cisplatin (100 μmol/l) inhibited transport via hOCT2-HEK293 but not hOCT1-HEK293 cells. In human proximal tubules, cisplatin competed with basolateral organic cation transport, whereas it had no effect in hepatocytes. In hOCT2-HEK293 cells treated for 15 hours, incubation with cisplatin induced apoptosis, which was completely suppressed by contemporaneous incubation with the hOCT2 substrate cimetidine (100 μmol/l). Thus, the presence of hOCT2 was necessary to make HEK293 cells sensitive to cisplatin toxicity, and the toxic effect was prevented by simultaneous incubation with cimetidine. The presence of hOCT2 in renal proximal tubules explains cisplatin organ-specific toxicity. The combination of cisplatin with other substrates that compete for hOCT2 offers an effective option to decrease nephrotoxicity in the clinical setting. These observations can now be translated to the bedside, where inert and nontoxic competitors

for hOCT2 can be evaluated and hopefully reduce the considerable and often dose-limiting nephrotoxicity of cisplatin. (*Am J Pathol* 2005; 167: 1477–1484)

Detlef Schlöndorff

A BMP-7 antagonist expressed in the kidney

Once ESRD develops, it cannot be reversed by currently available therapy. Although administration of large doses of bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) has been shown to repair established renal injury and improve renal function, the exact role of endogenous BMP-7 and its mechanism of action remain unclear. Yanagita *et al.* now show that the product of *uterine sensitization-associated gene-1* (*USAG1*), a novel BMP antagonist abundantly expressed in the kidney, is the central negative regulator of BMP function in the kidney, and that mice lacking *USAG-1* (*USAG1*^{-/-} mice) are resistant to renal injury. *USAG1*^{-/-} mice exhibited prolonged survival and preserved renal function in acute and chronic renal injury models. Renal BMP signaling, assessed by phosphorylation of Smad proteins, was significantly enhanced in *USAG1*^{-/-} mice with renal injury, suggesting that the preservation of renal function is attributable to enhancement of endogenous BMP signaling. Furthermore, the administration of neutralizing antibody against BMP-7 abolished renoprotection in *USAG1*^{-/-} mice. These findings indicate that *USAG-1* plays a critical role in the modulation of renoprotective action of BMP, and that inhibition of *USAG-1* is a promising means of development of novel treatment for renal diseases. (*J Clin Invest* 2006; 116: 70–79)

Juan Oliver

