

綜説

最終講義

私の腎臓病研究の40年： 蛋白尿発症機序の解明・新規治療薬の開発へ

河内 裕

新潟大学大学院医歯学総合研究科腎研究センター腎分子病態学分野

Toward clarifying the pathogenesis of proteinuria and developing novel therapies

Hiroshi KAWACHI

*Department of Cell Biology, Kidney Research Center, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences*

要旨

新潟大学腎研究センター基礎部門（旧腎研究施設）で40年以上にわたり腎の基礎研究に従事した。2008年からは教授として教室（腎分子病態学分野）を主宰し、多くの若手研究者とともに研究を進めた。退職にあたりこれまでの研究の経緯、今後の課題などについて講演した。主に取り組んできた研究テーマは蛋白尿の発症機序の解明、ネフローゼ症候群の新規治療法の開発である。蛋白尿は、糸球体上皮細胞（ポドサイト）の細胞間接着装置であるスリット膜の機能障害により発症することを明らかにした。スリット膜障害機序の解明を進め、新規治療薬開発の標的分子を同定、特許取得し、新規薬剤開発に向けた研究を進めた。また、腎不全にいたる進行性の糸球体障害モデルを開発した。このモデルは国内外の多くの研究グループに利用され新規薬剤の開発、適応拡大に貢献した。最後に、全国で唯一の腎に特化した特別研究施設である本学の腎研究センターの役割、重要性について述べた。

キーワード：蛋白尿，ネフローゼ症候群，ポドサイト，スリット膜，ネフリン

はじめに

新潟の腎グループは昭和20年代から国内の腎の先端医療、基礎研究を牽引してきた実績があり、1974年（昭和49年）に全国で唯一の腎に特化した基礎研究施設として腎研究施設（現、腎研究センター基礎部門）が設立された。私は腎研究施設に憧れて新潟大学に入学し、学生時代から研究に関わらせていただいた。その後、留学時代などの一

部の期間を除いて40年以上、腎研究施設で腎の基礎研究に従事した。2008年から教授として17年間教室を主宰した。この間、学内だけでなく国内外から多くの若手研究者が来室され、研究を進めてくれた。2025年3月に退職を迎えるにあたり2月15日に最終講義の機会を得、これまでの研究の経緯、腎臓病研究の今後の課題について講演した。本稿では、私が主な研究テーマとしてきた蛋白尿発症機序の解明・新規治療薬の開発に向けた研究を中心にこれまでの研究の経緯を述べる。

Reprint request to: Hiroshi KAWACHI

Department of Cell Biology,
Kidney Research Center, Niigata University
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
Niigata 951-8510, Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757

新潟大学腎研究センター腎分子病態学分野

河内 裕

研究の背景

慢性腎臓病の総患者数は、約2,000万人（成人の約5人に1人）と推定され、新たな「国民病」と位置づけられており腎臓病研究の必要性、重要性は益々高まってきている。腎臓は、生体の恒常性を維持する機能を果たしている。腎の濾過装置である糸球体は、代謝で生じた老廃物を血液から濾過して尿として排泄する一方で、身体に必要な血液中の蛋白質を尿中に漏らさないバリアとしての役割を果たしている。このバリア機能が障害され、血液中の蛋白質が尿中に漏れ出してしまっている状態が蛋白尿である。蛋白尿は、糸球体障害を示す最も重要な臨床所見であるだけでなく、尿細管中に漏出した蛋白質は尿細管細胞を傷害し腎臓病をさらに悪化させる。また疫学研究で、持続的な蛋白尿を示す人は、脳卒中や心血管疾患の発症率が、正常の人の3倍以上であると報告されている。蛋白尿、ネフローゼ症候群に対する治療薬としてアンジオテンシン系の抑制薬、免疫抑制薬が用いられているが、十分な蛋白尿抑制効果が得られない症例も多い。蛋白尿の発症メカニズムの解明、新規治療法の開発は、腎領域だけでなく関連する多くの臨床領域において極めて重要な研究課題である。また、蛋白尿の発症機序の解明は、生体各所のバリア機能の解明にもつながる研究で、生物学的な課題としても重要度の高い課題である。

蛋白尿発症機序の考え方の推移

血漿蛋白の通過を防ぐ糸球体毛細血管壁は内側（血管腔側）から糸球体内皮細胞、糸球体基底膜、糸球体上皮細胞（たこ足細胞、ポドサイト）の3層で構成されている。1990年代までは、糸球体基底膜が蛋白の通過を防ぐメインバリアであると考えられていたが、私達の教室の折笠道昭先生らが、当時最先端の技術であった単クローン抗体作製技術を用いてポドサイトの細胞

間接着装置であるスリット膜と反応する抗体の作製に成功し、この抗体をラットに投与すると、著明な蛋白尿が誘導されることを1987年に報告した。私は、大学院時代の最初の研究で、この抗体の動態を詳細に検討し、この抗体をラットに静注すると、投与後すぐ（1時間以内）にポドサイトの細胞表面に結合することを報告した¹⁾。この観察は、分子量16万の蛋白質である抗体（IgG）が容易に基底膜を通過し、ポドサイト表面に存在するスリット膜構成分子と結合し、その結果、蛋白尿を誘導するということである。この観察結果は、(i)糸球体基底膜は蛋白質の通過を防ぐバリアとしての機能は十分なものでないこと、(ii)スリット膜がバリアとしての役割を果たしていること、を示している。しかし、前述のように当時は糸球体基底膜がメインバリアであるとする考えが一般的であったため、私達の主張が広く受け入れられるには時間を要した。1999年に重篤な蛋白尿を呈する遺伝性疾患であるフィンランド型ネフローゼ症候群の原因遺伝子が同定され、ネフリンと名付けられたその遺伝子産物はスリット膜の構成分子であることが報告され、スリット膜がバリア機能を有する事が認識されるようになった。その後の検討で、私達が開発した抗体はネフリンを認識していることを報告し、米国、ドイツなどのグループからもネフリンについての研究が報告され、現在は、スリット膜がバリアとして重要な役割を果たしていること、ネフリンはスリット膜のバリア機能維持に関わる最も重要な分子であることが広く認知されている。

各種糸球体疾患における スリット膜障害についての検討

ネフリンに続き、フランスの家系の遺伝性難治性ネフローゼ症候群は、ポドシンと名付けられたネフリンと結合性を持つ分子の変異が原因であると報告された。これらの遺伝性疾患の研究によりスリット膜が蛋白尿を防ぐバリアとして機能

していることが認識されてきた。一方で、日常臨床で経験する腎、糸球体疾患における蛋白尿の発症にスリット膜障害、ネフリンの機能障害が関与しているのか？という疑問があった。私達は、各種糸球体疾患の病態モデル、臨床症例の腎生検材料を用いて、微小変化型ネフローゼ症候群、巣状糸球体硬化症、膜性腎症、糖尿病性腎症などの糸球体疾患におけるネフリン、ポドシンなどのスリット膜機能分子の発現を検討し、多くの糸球体疾患における蛋白尿の発症にスリット膜機能分子の発現低下、局在の変化が関与していることを報告した²⁾⁻⁶⁾。また、私たちはスリット膜関連分子を認識する抗体、プローベを数多く開発、保持しているため、国内外の多くの施設から検討依頼があった。オランダのグループとは巣状糸球体硬化症⁷⁾、オーストラリアのグループとは糖尿病性腎症⁸⁾などで検討を進め、それぞれの疾患の蛋白尿の発症にスリット膜のバリア機能の低下が関与していることを示した。

スリット膜の分子構造の 全容解明に向けた取り組み

(1) 作業仮説・方法

ネフリン、ポドシンなどがスリット膜の機能分子として同定されてきたが、スリット膜の分子構造の詳細は不明であった。私達はスリット膜の分子構造の全体像の解明、病因となる分子の同定に向けた研究を進めた。当時（1990年代）に広く用いられていたSubtraction（引き算）法を用いて、正常と私たちが開発してきた病態モデルの糸球体とを比較し、mRNA発現が変化している分子を探索した。一連の作業で、病態モデルで著明に発現が変化している分子群を同定したが、その中で病態時に発現が低下している分子に着目して分子機能の検討を行った。作業仮説は、「これらの分子の発現、機能低下がスリット膜障害、蛋白尿をもたらした」ということである。

(2) シナプス関連分子の同定

Synaptic vesicle protein-2B (SV2B)、Neurexin, Synbindinなどのシナプス関連分子がスリット膜部に発現しており、その機能低下が蛋白尿の発症に関与していることを明らかにした⁹⁾⁻¹²⁾。これらの検討結果は、当初意外性を持って受け取られたが、ポドサイトと神経細胞は共に増殖能を持たない終末分化細胞であること、特徴的な突起を持つなどの共通した特徴を持っていること、スリット膜とシナプスは、ともにこの終末分化細胞の特徴的な突起間に存在する細胞間接着装置であるという共通性を有していることから、シナプス関連分子がスリット膜においても機能分子として働いていることは合理性があると考察している。同定したシナプス関連分子が診断マーカー、治療標的となることを示し特許取得している（特許番号：6770741）。早期の臨床還元を企図して、神経領域疾患で使用されている治療薬、薬剤として上梓には至っていないが神経細胞に対する保護効果が確認されている化合物のポドサイト保護機能についてのスクリーニング検討を進めている。

(3) 細胞間接着装置関連分子の解析

各種の細胞膜分子、細胞間接着分子がスリット膜に発現していること、その機能低下が蛋白尿発症に関与していることを明らかにした。一連の研究でポドプラニン¹³⁾、NHERF2¹⁴⁾などの細胞膜関連分子、JAM4¹⁵⁾、エフリンB1¹⁶⁾など細胞間接着装置関連分子の機能についての研究も進めた。最近の研究でエフリンB1は、ネフリンと細胞外部で結合しており、細胞質部ではPar複合体と結合していること¹⁷⁾¹⁸⁾、これらの分子の相互作用の変化が蛋白尿発症の引き鉄となっていることを明らかにした（詳細は後述）。

既存薬剤の作用機序の検討

アンジオテンシンII (AngII) 1型受容体ブロッカー (ARB) などのアンジオテンシン系抑

制薬が蛋白尿改善効果を持つことが臨床的に知られていたが、その作用機序については不明であった。ARBのスリット膜に対する直接の保護効果の有無を検証するため、当教室で開発された抗ネフリン抗体誘導腎症に対するARBの効果の検討を行った。このモデルは、抗体投与1日目に既に病的蛋白尿が誘導され、投与5日から7日目にピークとなるが、ARBの投与でピーク時の蛋白尿が抑制されること、ネフローゼ症候群の病態形成に局所のAngII活性の増加が関与していることを明らかにした¹⁹⁾⁻²¹⁾。培養細胞を用いた検討で1型受容体を介したAngII刺激がネフリンの発現を低下させること、一方で2型受容体を介したAngII刺激がネフリンの発現を増加させることを明らかにした。また、多くのネフローゼ症候群の発症に免疫系の亢進が関与していると考えられているため免疫抑制薬が治療に使われてきたが、その作用機序の詳細は不明であった。カルシニューリン (CaN) 阻害薬の作用機序について上述のスリット膜障害モデルなど教室で開発した複数のネフローゼ症候群モデルでの効果の検討を行い、CaN 阻害薬がポドサイトに直接作用することを明らかにした²²⁾²³⁾。一連の薬効機序についての検討はポドサイト障害の発症機序の理解にも重要な示唆を与えた。

抗ネフリン抗体誘導腎症の 発症メカニズムの検討

私達のグループが開発したラットでの抗ネフリン抗体腎症は、著明な組織学的変化を伴わないため微小変化型ネフローゼ症候群 (MCNS) のモデルとして利用されてきた。一方でMCNS, 巣状糸球体硬化症 (FSGS) では、腎生検組織で明確なIgGの沈着が見られないことから、その発症に抗体が関与していることが想定されていなかったため、私達のモデルは、あくまでラットの病態で、ヒト(臨床)では存在しないetiologyの病態とされてきた。そのため、私達のラットでのモデルは薬剤検定などに多用されてきたが、

このモデルの有用性、重要性について批判的な見方もあり、このモデルの発症機序の研究はあまり評価されないできた。

しかしながら、一昨年(2023年)にハーバード大学のグループが、抗ネフリン自己抗体が発症に関与しているMCNS症例の報告があり、その後ヨーロッパ、本邦からの報告でFSGSでも抗ネフリン自己抗体が関与していることが報告された。また当初の想定より多くのMCNS, FSGS症例の発症に抗ネフリン自己抗体が関与していると考えられてきており、私達のモデルが再評価されてきた。私達の教室では、これまで独自に抗ネフリン抗体誘導腎症の発症機序の検討を進めてきた。初期の検討でこのモデルの蛋白尿は、補体並びに各種炎症性因子非依存性に誘導されること、極めて微量の抗体で誘導されることを報告し、抗体が細胞表面のネフリンと結合すると、早期(1時間以内)にネフリンそして関連のスリット膜分子のmRNAが低下し、その後これらスリット膜機能分子の蛋白質レベルの発現が低下することによりスリット膜の分子構造が変化してバリア機能が低下し、その結果蛋白尿が発症することを報告してきた²⁴⁾⁻²⁶⁾。しかしながら、スリット膜機能分子のmRNA発現の低下を誘導する細胞内のシグナル伝達機構は不明であった。最近の臨床報告に後押しされる形で、在任中の最後の仕事として、抗ネフリン抗体誘導腎症の発症機序の解明に、教室スタッフ一丸となって取り組んだ。これまで病態モデルの誘導に用いてきた抗ネフリン抗体はラットのネフリンとのみ反応する抗体で、ヒトのネフリンとは結合性を持たなかったため、ヒトでの検討が進まなかった。私たちはこれまでの検討で得られたネフリン分子の機能サイトについての情報を元に検討を進め、ヒトのネフリンと反応し、ヒト由来の培養ポドサイトに刺激(リン酸化)誘導能を持つ抗体の作製に成功した。この抗体を用いて細胞内のシグナル伝達機構の解明を進め、抗ネフリン抗体が細胞表面のネフリンと結合するとネフリンだけでなく、ネフリンと結合しているエフリンB1をリン酸化

抗ネフリン抗体刺激により蛋白尿が発症するメカニズム

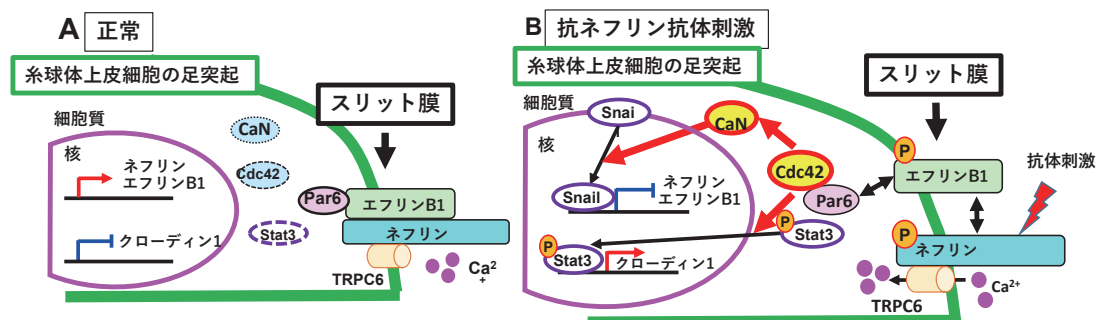


図1 (A) 正常糸球体上皮細胞のスリット膜の細胞外部(踏切の遮断機に相当する部位)に、(ネフリン-エフリンB1-Par6)の分子連結が存在し、スリット膜のバリア機能維持に重要な役割を果たしている。
 (B) スリット膜のネフリンが抗体により刺激を受けると、ネフリンと結合しているカルシウムチャンネルであるTRPC6経由で細胞内にカルシウムが過剰に流入する。この過剰なカルシウムの流入が引き鉄となり、ネフリン、エフリンB1、Par6の間の結合が崩壊する。エフリンB1から遊離したPar6はCdc42と結合し、Cdc42の働きを活性化させる。Cdc42の過剰な活性化は、カルシニューリン(CaN)の活性化を介して転写調節因子であるSnailに作用しネフリン、エフリンB1などの発現が低下する。これらのスリット膜機能分子の発現が低下することにより蛋白尿が発症する。また、Cdc42の活性化はCaN非依存性にStat3に作用し、正常のボドサイトには存在しない密着結合の機能分子であるクローディン1の発現を誘導する。

させること、リン酸化したネフリンとエフリンB1は解離し、リン酸化したエフリンB1はPar6とも解離し、エフリンB1から遊離したPar6はシグナル伝達分子であるCdc42と結合し、これを安定化、活性化させる。Cdc42の活性化は、CaNの活性化を誘導し、転写調節因子のSnail系に作用し、ネフリン、エフリンB1などスリット膜機能分子群のmRNA発現の低下を誘導することを明らかにした(図1)。この研究は米国腎臓学会誌(JASN)に掲載され²⁷⁾、巻頭で注目論文として紹介された。Cdc42の活性抑制が新規治療薬開発の戦略として有望であると注目されている。このモデルでの検討がネフローゼ症候群の新規治療薬の開発、臨床応用に結びつく日はそう遠くないと考えている。

スリット膜は極めて分化した特殊な構造、機能を有する細胞間接着装置で、その発生、形成機序の解明は重要な課題であるが、今回の検討でスリット膜の分化、形成機構についての重要な知見も得られた。抗ネフリン抗体による刺激で、CaN非依存性の別経路のシグナルにより、密着結合の機能分子であるクローディン1の

mRNAの発現が誘導されることを明らかにした。この所見は、スリット膜は密着結合が分化した細胞間接着装置であり、蛋白尿はスリット膜が先祖返りし未分化形態になることにより発症する病態であることを示している。今回の報告はスリット膜の性状、細胞間接着装置の分化機構の解明の点でも重要な研究であると考えている。

各種病態モデルの開発

ネフローゼ症候群モデルでの検討とともに、不可逆性、進行性の糸球体障害モデルの開発にも取り組んできた。研究を始めた1990年代、腎不全にいたる進行性の糸球体疾患の有用な動物モデルが無く、それが病態解明、薬剤開発が進まない理由と考えられていたため、糸球体構造がヒトと近似しているラットでのモデルの開発に取り組んだ。大学院時代にメサングウム細胞表面分子と結合する抗体により誘導される進行性のモデルを確立した^{28) 29)}。このモデルは国内外の多くの研究グループに活用していただき共

同研究を進めた³⁰⁾⁻³²⁾。私達の研究室でもこのモデルを用いて病態形成機序の検討を行い、各種Tリンパ球の役割、フラクタルカインなどのケモカイン、サイトカインの関与、タクロリムスなど各種免疫抑制薬の薬理作用の検討などを行ってきた³³⁾⁻³⁷⁾。このモデルを用いた研究は糸球体疾患の進行機序の解析、新規薬剤開発、既存薬剤の適応拡大などに貢献してきた。

腎研究センター(基礎部門)の役割について

国内で唯一の腎に関する特別研究施設(センター)である旧腎研究施設(現腎研究センター基礎部門)の役割は、単に研究成果を挙げるだけでなく腎臓分野の研究力の底上げに資することと考えてきた。そのために最も重要なことは若手の研究者の育成と考え、これまで国内外から多くの若手臨床医、研究者を受け入れてきた。私達の研究室で研究された先生方は、現在全国各地、韓国、中国などで、腎の先端医療の指導者、研究者として活躍されている。また、私が主な研究テーマとしてきたポドサイト分野全体の研究レベルの向上を目的としてポドサイト研究会を設立した。10数年にわたり毎年3月に新潟で研究会を開催し、全国からこの分野の一線の研究者に参加、発表していただいた。研究者間の熱いDiscussion、情報交換などの場を提供してきたことで、国内のポドサイト研究の活性化に重要な役割を果たしたと評価していただいている。

謝辞

学生時代から現在まで40年以上にわたりご指導、ご支援をいただいていた清水不二雄先生に心よりの感謝の意を表します。大学院時代から大変お世話になった追手廻先生、折笠道昭先生、先輩として多くの貴重なご助言をいただいた松井克之先生、森岡哲夫先生に感謝の意を表します。スタッフとして最後まで教室を支えていただいた准教授の福住好恭先生、助教の内許玉楓(旧名:張瑩)先生、安田英紀先生(助教)、そして教室のモデル開発、分子生物学研究の立ち上げの際

にスタッフとして貢献していただいた小林英雄先生、小池廣子先生、富田雅之先生に深謝いたします。

学内、国内外から来室された多くの若手研究者が研究を進めてくれた。宮内直子先生、金子博司先生、高橋彩先生、高島奈津美先生、山岸稜平先生、常国慶先生(中国)、Ivanov先生(ロシア)らは大学院生として、韓基東先生(韓国)、Murad先生(バングラディシュ)、高波先生(中国)は研究生として研究を推進してくれた。感謝の意を表します。

学内外から多くの臨床医が来室し病態解明、薬効機序の解明に貢献してくれた。伊藤由美先生、森岡良夫先生、中枝武司先生、大滝恭弘先生、山崎美穂子先生、若松彩子先生、長谷川絵理子先生、高村紗由里先生(新潟大学第2内科、腎・膠原病内科)、池住洋平先生、唐澤環先生(新潟大学小児科)、渡辺徹先生(新潟市民病院小児科)、鈴木浩一先生(東京女子医大内科)、張田豊先生(東京大学小児科)、橋本多恵子先生(山形大学小児科)、齋藤陽先生(聖マリアンナ医大小児科)、高田彰先生(岩手医大小児科)、鈴木康一先生(弘前大学小児科)、渡辺秀平先生(福島県立医大腎臓内科)、永井隆先生(徳島大学小児科)らに感謝の意を表します。

研究補助員の皆様にも大変お世話になった。特に萱場陸さんには30年近くにわたり教室の研究を支えていただいた。北澤幸奈さん、長澤千春さん、川崎由美さんにも助けていただいた。感謝の意を表します。

ライフワークの1つとして取り組んできたポドサイト研究会(旧称:弥彦ポドサイトセミナー)は、その設立、研究会開催にあたり新潟県立吉田病院小児科の原正則先生に大変お世話になった。感謝の意を表します。

新潟大学の腎臓研究の伝統、実績、そして医学部(医歯学総合研究科)のご支援のおかげで研究を進めることができた。おかげで40年以上にわたり大変幸福な研究者生活を過ごすことができた。ご厚誼、ご支援いただいた全ての方に心より感謝を申し上げます。

文 献

- 1) Kawachi H, Matsui K, Orikasa M, Morioka T, Oite T and Shimizu F: Quantitative studies of monoclonal antibody 5-1-6-induced proteinuric state in rats. Clin Exp Immunol 87: 215-219, 1992.
- 2) Kawachi H, Koike H, Kurihara H, Yaoita E,

- Orikasa M, Shia MA, Sakai T, Yamamoto T, Salant DJ, Shimizu F: Cloning of rat nephrin: expression in developing glomeruli and in proteinuric states. *Kidney Int* 57: 1949-1961, 2000.
- 3) Kawachi H, Koike H, Kurihara H, Sakai T, Shimizu F: Cloning of rat homologue of podocin: expression in proteinuric states and in developing glomeruli. *J Am Soc Nephrol* 14: 46-56, 2003.
 - 4) Nakatsue T, Koike H, Han GD, Suzuki K, Miyauchi N, Yuan H, Salant DJ, Gejyo F, Shimizu F, Kawachi H: Nephrin and podocin dissociate at the onset of proteinuria in experimental membranous nephropathy. *Kidney Int* 67: 2239-2253, 2005.
 - 5) Otaki Y, Miyauchi N, Higa M, Takada A, Kuroda T, Gejyo F, Shimizu F, Kawachi H: Dissociation of NEPH1 from nephrin is involved in development of a rat model of focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 295: F1376-1387, 2008.
 - 6) Han GD, Koike H, Nakatsue T, Suzuki K, Yoneyama H, Narumi S, Kobayashi N, Mundel P, Shimizu F, Kawachi H: IFN-inducible protein-10 has a differential role in podocyte during Thy 1.1 glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 14: 3111-26, 2003.
 - 7) Koop K, Eikmans M, Baelde HJ, Kawachi H, De Heer E, Paul LC, Bruijn J A: Expression of podocyte-associated molecules in acquired human kidney diseases. *J Am Soc Nephrol* 14: 2063-71, 2003.
 - 8) Bonnet F, Cooper ME, Kawachi H, Allen TJ, Boner G, Cao Z: Irbesartan normalises the deficiency in glomerular nephrin expression in a model of diabetes and hypertension. *Diabetologia* 44: 874-877, 2001.
 - 9) Miyauchi N, Saito A, Karasawa T, Harita Y, Suzuki K, Koike H, Han GD, Shimizu F, Kawachi H: Synaptic vesicle protein 2B is expressed in podocyte, and its expression is altered in proteinuric glomeruli. *J Am Soc Nephrol* 17: 2748-2759, 2006.
 - 10) Fukusumi Y, Wakamatsu A, Takashima N, Hasegawa E, Miyauchi N, Tomita M, Kawachi H: SV2B is essential for the integrity of the glomerular filtration barrier. *Lab Invest* 95: 534-545, 2015.
 - 11) Saito A, Miyauchi N, Hashimoto T, Karasawa T, Han GD, Kayaba M, Sumi T, Tomita M, Ikezumi Y, Suzuki K, Koitabashi Y, Shimizu F, Kawachi H: Neurexin-1, a presynaptic adhesion molecule, localizes at the slit diaphragm of the glomerular podocytes in kidneys. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 300: R340-348, 2011.
 - 12) Ivanov V, Fukusumi Y, Zhang Y, Yasuda H, Kitazawa M, Kawachi H: Synbindin Downregulation Participates in Slit Diaphragm Dysfunction. *Am J Nephrol* 52: 620-629, 2021.
 - 13) Suzuki K, Fukusumi Y, Yamazaki M, Kaneko H, Tsuruga K, Tanaka H, Ito E, Matsui K, Kawachi H: Alteration in the podoplanin-ezrin-cytoskeleton linkage is an important initiation event of the podocyte injury in puromycin aminonucleoside nephropathy, a mimic of minimal change nephrotic syndrome. *Cell Tissue Res* 362: 201-213, 2015.
 - 14) Fukusumi Y, Yasuda H, Zhang Y, Kawachi H: Nephrin-Ephrin-B1- Na^+/H^+ Exchanger Regulatory Factor 2-Ezrin-Actin Axis Is Critical in Podocyte Injury. *Am J Pathol* 191: 1209-1226, 2021.
 - 15) Harita Y, Miyauchi N, Karasawa T, Suzuki K, Han GD, Koike H, Igarashi T, Shimizu F, Kawachi H: Altered expression of junctional adhesion molecule 4 in injured podocytes. *Am J Physiol Renal Physiol* 290: F335-344, 2006.

- 16) Hashimoto T, Karasawa T, Saito A, Miyauchi N, Han GD, Hayasaka K, Shimizu F, Kawachi H: Ephrin-B1 localizes at the slit diaphragm of the glomerular podocyte. *Kidney Int* 72: 9549-64, 2007.
- 17) Fukusumi Y, Zhang Y, Yamagishi R, Oda K, Watanabe T, Matsui K, Kawachi H: Nephlin-Binding Ephrin-B1 at the Slit Diaphragm Controls Podocyte Function through the JNK Pathway. *J Am Soc Nephrol* 29: 1462-1474, 2018.
- 18) Takamura S, Fukusumi Y, Zhang Y, Narita I, Kawachi H: Partitioning-Defective-6-Ephrin-B1 Interaction Is Regulated by Nephlin-Mediated Signal and Is Crucial in Maintaining Slit Diaphragm of Podocyte. *Am J Pathol* 190: 333-346, 2020.
- 19) Suzuki K, Han GD, Miyauchi N, Hashimoto T, Nakatsue T, Fujioka Y, Koike H, Shimizu F, Kawachi H: Angiotensin II type 1 and type 2 receptors play opposite roles in regulating the barrier function of kidney glomerular capillary wall. *Am J Pathol* 170: 1841-1853, 2007.
- 20) Takahashi A, Fukusumi Y, Yamazaki M, Kayaba M, Kitazawa Y, Tomita M, Kawachi H: Angiotensin II type 1 receptor blockade ameliorates proteinuria in puromycin aminonucleoside nephropathy by inhibiting the reduction of NEPH1 and nephrin. *J Nephrol* 27: 627-634, 2014.
- 21) Yamazaki M, Fukusumi Y, Kayaba M, Kitazawa Y, Takamura S, Narita I, Kawachi H: Possible role for glomerular-derived angiotensinogen in nephrotic syndrome. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 17: 1-8, 2016.
- 22) Wakamatsu A, Fukusumi Y, Hasegawa E, Tomita M, Watanabe T, Narita I, Kawachi H: Role of calcineurin (CN) in kidney glomerular podocyte: CN inhibitor ameliorated proteinuria by inhibiting the redistribution of CN at the slit diaphragm. *Physiol Rep* 4: e12679, 2016.
- 23) Yasuda H, Fukusumi Y, Ivanov V, Zhang Y, Kawachi H: Tacrolimus ameliorates podocyte injury by restoring FK506 binding protein 12 (FKBP12) at actin cytoskeleton. *FASEB J* 35: e21983, 2021.
- 24) Kawachi H, Koike H, Shimizu F: mAb 5-1-6 nephropathy and nephrin. *Microsc Res Tech* 57: 236-240, 2002.
- 25) Kawachi H, Han GD, Miyauchi N, Hashimoto T, Suzuki K, Shimizu F: Therapeutic targets in the podocyte: findings in anti-slit diaphragm antibody-induced nephropathy. *J Nephrol* 22: 450-456, 2009.
- 26) Kawachi H, Fukusumi Y: New insight into podocyte slit diaphragm, a therapeutic target of proteinuria. *Clin Exp Nephrol* 24: 193-204, 2020.
- 27) Zhang Y, Fukusumi Y, Yasuda H, Chang G, Kayaba M, Kawachi H: Cdc42 Activation in Antinephrin Antibody-Induced Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 36: 2164-2176, 2025.
- 28) Kawachi H, Orikasa M, Matsui K, Iwanaga T, Toyabe S, Oite T, Shimizu F: Epitope-specific induction of mesangial lesions with proteinuria by a MoAb against mesangial cell surface antigen. *Clin Exp Immunol* 88: 399-404, 1992.
- 29) Kawachi H, Iwanaga T, Toyabe S, Oite T, Shimizu F: Mesangial sclerotic change with persistent proteinuria in rats after two consecutive injections of monoclonal antibody 1-22-3. *Clin Exp Immunol* 90: 129-134, 1992.
- 30) Kitamura M, Kawachi H: Creation of an In vivo cytosensor using engineered mesangial cells. Automatic sensing of glomerular

- inflammation controls transgene activity. *J Clin Invest* 100: 1394-1399, 1997.
- 31) Wang Y, Krämer S, Loof T, Martini S, Kron S, Kawachi H, Shimizu F, Neumayer HH, Peters H: Stimulation of soluble guanylate cyclase slows progression in anti-thy1-induced chronic glomerulosclerosis. *Kidney Int* 68: 47-61, 2005.
- 32) Ostendorf T, Rong S, Boor P, Wiedemann S, Kunter U, Haubold U, van Roeyen CR, Eitner F, Kawachi H, Starling G, Alvarez E, Smithson G, Floege J: Antagonism of PDGF-D by human antibody CR002 prevents renal scarring in experimental glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 17: 1054-1062, 2006.
- 33) Ikezumi Y, Kawachi H, Toyabe S, Uchiyama M, Shimizu F: An anti-CD5 monoclonal antibody ameliorates proteinuria and glomerular lesions in rat mesangioproliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 58: 100-114, 2000.
- 34) Ikezumi Y, Kanno K, Karasawa T, Han GD, Ito Y, Koike H, Toyabe S, Uchiyama M, Shimizu F, Kawachi H: The role of lymphocytes in the experimental progressive glomerulonephritis. *Kidney Int* 66: 1036-1048, 2004.
- 35) Ito Y, Kawachi H, Morioka Y, Nakatsue T, Koike H, Ikezumi Y, Oyanagi A, Natori Y, Natori Y, Nakamura T, Gejyo F, Shimizu F: Fractalkine expression and the recruitment of CX3CR1+ cells in the prolonged mesangial proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 61: 2044-2057, 2002.
- 36) Morioka Y, Koike H, Ikezumi Y, Ito Y, Oyanagi A, Gejyo F, Shimizu F, Kawachi H: Podocyte injuries exacerbate mesangial proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 60: 2192-2204, 2001.
- 37) Ikezumi Y, Kanno K, Koike H, Tomita M, Uchiyama M, Shimizu F, Kawachi H: FK506 ameliorates proteinuria and glomerular lesions induced by anti-Thy 1.1 monoclonal antibody 1-22-3. *Kidney Int* 61: 1339-1350, 2002.

