

慢性腎臓病における Vasohibin-1 の腎保護効果 についての基礎的検討

[1] 組織

代表者：前島 洋平

(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科)

対応者：佐藤 靖史

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費24万5千円，旅費5万5千円

[2] 研究経過

本邦にて慢性腎臓病 (CKD) 患者は1,330万人と推計され、CKDから末期腎不全に至り透析療法を施行される患者数は年々増加し30万人超となっている。このような背景から、CKDについての臨床及び基礎研究による進展機序の解明と新規治療法の開発は、医療経済的にも重要な課題である。CKDの主要な原疾患は、糖尿病性腎症、腎硬化症、慢性腎炎等であるが、末期腎不全に至る際に糸球体硬化・尿細管間質病変(間質線維化)が共通して観察される。尿細管間質障害は腎機能予後の予知因子であるが、傍尿細管毛細血管(peritubular capillary: PTC)障害に関連した尿細管間質虚血が重要な増悪因子となる。血管新生促進因子 VEGF-A は、腎障害時の糸球体内皮修復作用や PTC 増加/尿細管間質病変改善作用を有する一方、糖尿病性腎症早期では糸球体での VEGF 発現増加、抗 VEGF 抗体投与による腎症進展抑制効果が報告され、その進展に関与する。

Vasohibin-1 (VASH-1) は腫瘍循環分野 佐藤教授らにより同定された血管新生抑制因子で、血管内皮細胞を VEGF-A 等で刺激した際に発現が増加する。

本共同研究では、内因性 VASH-1 発現変化が腎糸球体・尿細管間質病変の進展に関与し CKD における腎疾患バイオマーカーとして有用である、そしてその発現調節は腎障害進展の制御し得る、との仮説の下に本研究にて以下の検討を行った。

以下、研究活動状況の概要を記す。

平成25年3月2日に、第8回 Vasohibin 研究会が開催されたが、この際に「腎疾患における Vasohibin-1, 2 の機能的意義についての解析」という演題にて研究成果を発表し(田邊 克幸 助教)、今

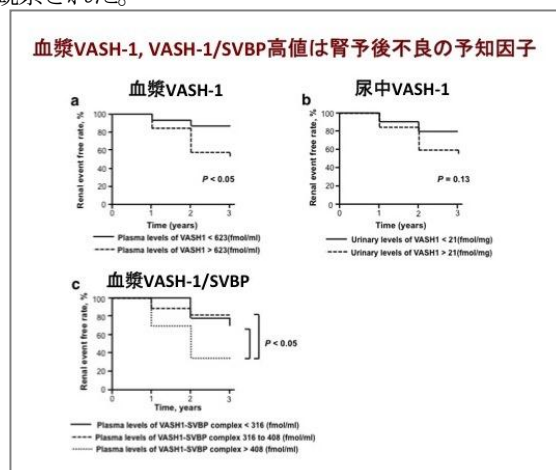
後の研究計画についての打ち合わせを実施した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、VASH-1 ヘテロ欠損マウスに streptozotocin (STZ) 誘発1型糖尿病、片側尿管結紮(UUO: 尿細管間質病変), Angiotensin-II (A-II)-infusion, 葉酸腎症モデルを各々作成した。VASH-1 ヘテロ欠損マウスでは、野生型対照マウスに比して、糖尿病性腎症(アルブミン尿、糸球体肥大、足細胞障害、単球浸潤、NF- κ B 活性化、MCP-1 発現増加)、UUO(間質線維化、単球浸潤、ケモカイン発現増加)、A-II-infusion(糸球体肥大、間質単球浸潤、ケモカイン発現増加)、葉酸腎症(腎機能障害、尿細管上皮細胞障害)等の腎症変化(STZ), そして間質炎症細胞浸潤・間質線維化の増悪を認めた。培養糸球体足細胞を用いた検討で、VASH-1 siRNA 導入による濾過障壁維持に関与する nephrin, ZO-1 発現低下と、VEGF-A 発現増加が観察された(高糖濃度培養下)。また、腎線維芽細胞では、VASH-1 siRNA 導入による間質型コラーゲン, TGF- β の発現増加, pSmad3 増加が観察された。



第2に、CKD患者では、血中VASH-1濃度が血圧/年齢と負の相関を示し、さらに、血漿VASH-1濃度高値と、血漿VASH-1/SVBP濃度高値は、腎機能低下予後悪化を予知しうる事が、CKD患者での検討で明らかとなった(図) <投稿準備中>。

ヒト腎組織での VASH-1 発現について免疫染色にて検討したが、正常腎組織では主として糸球体/傍尿細管毛細血管内皮に観察され、CKD 患者群では一部の浸潤炎症細胞、半月体部位にも陽性で、腎 VASH-1 陽性細胞数と間質炎症細胞浸潤、半月体形成、糸球体 VEGFR-2 陽性領域との間に正の相関を認めた（東北大学 佐藤教授、川崎医科大学病理学 2 鹿股直樹先生との共同研究）。

更に、腎疾患における VASH-2 の意義を検討するために、VASH-2 ホモ欠損マウスに 1 型糖尿病を誘発したところ、野生型糖尿病群に比してアルブミン尿の増悪が認められており、現在解析を進めている。

（3-2）波及効果と発展性など

（大型プロジェクトへの発展・国際会議（シンポジウム）への発展・学外研究者との交流、共同研究による効果・研究者ネットワークの拡大・若手研究者の育成・新研究領域の開拓・成果の他分野への応用・萌芽的研究への発展等）

本共同研究は、学外研究者との交流が飛躍的に活性化し、複数の腎臓病領域の基礎及び臨床研究プロジェクトに発展した。また、本共同研究で明らかになった Vasohibin-1 による腎保護効果、同欠損による腎疾患の増悪、腎臓病バイオマーカーとしての可能性という成果は、新規腎疾患治療薬の創薬・腎疾患進展予知に有用なバイオマーカーの開発という新しい研究領域の開拓（萌芽的研究の発見）に結びつき、今後の発展が期待されている。

平成 24 年の日本腎臓学会術総会、米国腎臓学会においても、上記新知見について研究成果の発表を行った。

[4] 成果資料 *：corresponding author.

- Nasu T, Maeshima Y, Kinomura M, Kawahara HK, Tanabe K, Sugiyama H, Sonoda H, Sato Y, and Makino, H. Vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis, ameliorates renal alterations in a mouse model of diabetic nephropathy. Diabetes. 58(10):2365-2375, 2009.
- Miyake K, Nishida K, Kadota Y, Yamasaki H, Nasu T, Saito D, Tanabe K, Sonoda H, Sato Y, Maeshima Y and Makino, H. Inflammatory cytokine-induced expression of Vasohibin-1 by rheumatoid synovial fibroblasts. Acta Medica Okayama. 63(6):349-358, 2009.
- Kikumoto Y, Sugiyama H, Inoue T, Morinaga H, Takiue K, Kitagawa M, Fukuoka N, Saeki M, Maeshima Y, Wang DH, Ogino K, Masuoka N, Makino H. Sensitization to alloxan-induced diabetes and pancreatic cell apoptosis in acatalasemic mice. Biochem Biophys Acta-Mol Basis Dis. 1802(2):240-246, 2010.
- Maeshima Y and Makino H. Angiogenesis and chronic kidney disease. Fibrogenesis and Tissue Repair. 3(13):1-17, 2010.
- Yamasaki H, Maeshima Y, Nasu T, Saito D, Tanabe K, Hirokoshi-Kawahara K, Sugiyama H, Sakai Y, Makino H. Intermittent administration of a sustained-release prostacyclin analog ONO-1301 ameliorates renal alterations in a rat type 1 diabetes model. Prostag Leukotr Ess. 84:99-107, 2011.
- Saito D, Maeshima Y, Nasu T, Yamasaki H, Tanabe K, Sugiyama H, Sonoda H, Sato Y, Makino H. Amelioration of renal alterations in obese type 2 diabetic mice by Vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis. Am J Physiol-Renal Physiol. 300(4):F873-F886, 2011.
- Nasu T, Kinomura M, Tanabe K, Yamasaki H, Htay SL, Saito D, Hinamoto N, Watatani H, Ujike H, Suzuki Y, Sugaya T, Sugiyama H, Sakai Y, Matsumoto K, Maeshima Y, Makino H. A sustained-release prostacyclin analog ONO-1301 ameliorates tubulointerstitial alterations in a mouse obstructive nephropathy model. Am J Physiol-Renal Physiol. 302(12):F1616-1629, 2012.
- Inoue T, Sugiyama H, Kitagawa M, Takiue K, Morinaga H, Ogawa A, Kikumoto Y, Kitamura S, Maeshima Y, Makino H. Suppression of adiponectin by aberrantly glycosylated IgA1 in glomerular mesangial cells in vitro and in vivo. PLoS One. 7(3):e33965, 2012.
- Tanabe K, Tamura Y, Lanasp MA, Miyazaki M, Suzuki N, Sato W, Maeshima Y, Schreiner GF, Villarreal FJ, Johnson RJ, Nakagawa T. Epicatechin limits renal injury by mitochondrial protection in cisplatin nephropathy. Am J Physiol-Renal Physiol. 303(9): F1264-1274, 2012.