

慢性腎臓病における Vasohibin ファミリー分子の病態意義についての検討

[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 337,380 円，旅費 62,620 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 negative feedback 制御因子である。VASH-2 は VASH-1 のホモログで主として単核球等に由来するが、発芽性血管新生を促進し、腫瘍病変とも関連する。

本共同研究では、内因性 VASH-1, VASH-2 の CKD 進展における機能的意義を解明し、その発現調節等により腎障害の進展を制御し得る、との仮説の下に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 26 年 1 月 11-12 日に、第 9 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、今後の研究計画についての打ち合わせを実施した。

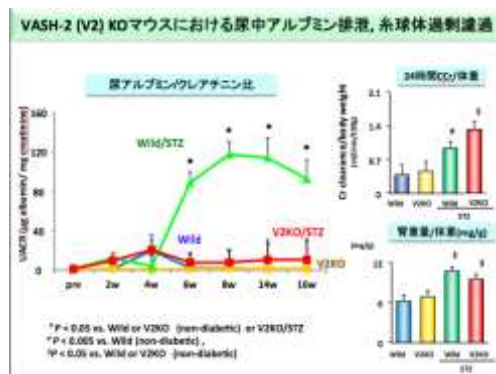
[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

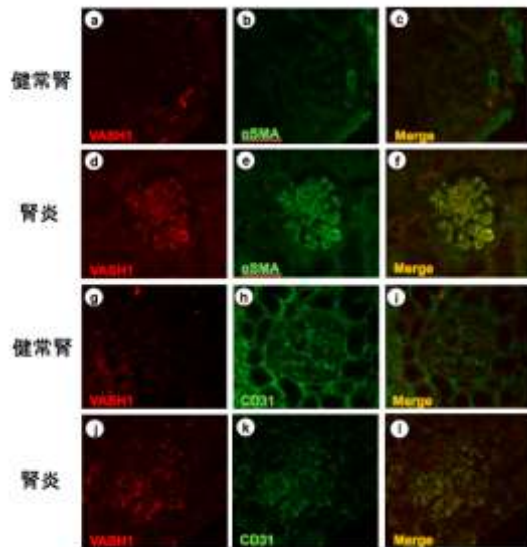
まず第 1 に、VASH-1 ヘテロ欠損マウスに streptozotocin (STZ) 誘発 1 型糖尿病、片側尿管結紮 (UUO: 尿細管間質病変), Angiotensin-II (A-II)-infusion モデルを各々作成した。VASH-1 ヘテロ欠損マウスでは、野生型対照マウスに比して、糖尿病性腎症 (アルブミン尿、糸球体肥大、足細胞障害、単球浸潤、NF- κ B 活性化、VEGF-A 増加、Ang-1/Ang-2 比低下: *manuscript in preparation*)、UUO (間質線維化、単球浸潤、ケモカイン発現増加: *manuscript in preparation*)、A-II-infusion (糸球体肥大、間質単球浸潤、ケモカイン発現増加) 等の増悪を認めた。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、Ang-1 発現低下が観察された (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。加齢 VASH-1 ヘテロ欠損マウスでは、加齢野生型マウスに比して軽度の尿量減少、尿中 Na 排泄低下を認めていた。

第 2 に、1 型糖尿病を惹起した VASH-2 欠損マウスでは、野生型糖尿病群に比してアルブミン尿が有意に減少し、電顕にて糸球体足細胞障害が減少し、腎での TGF- β 1 発現の増加が抑制されていた (図)。



一方、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ということが明らかとなった<manuscript in revision>。さらに、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 患者群では内皮細胞、メサンギウム細胞、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 (図, Acta Medica Okayama, *in press*)。



CKD 患者における VASH-2 発現と腎組織・臨床指標、腎機能予後との関連についても検討を行っている。

(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、Vasohibin-2 による腎障害進展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 25 年の日本腎臓学会術総会、米国腎臓学会、国際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。

バゾヒビンによる糖尿病性腎症治療効果に関して、

2013 年 4 月 26 日に日本国特許を取得した (第 5256192 号)。

[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.
- Maeshima Y** and Makino H. Angiogenesis and chronic kidney disease. *Fibrogenesis and Tissue Repair*. 3(13):1-17, 2010.
- 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.
- Tanabe K, Tamura Y, Lanaspas 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.
- Matsuda M, Tamura K, Wakui H, Maeda A, Ohsawa M, Kanaoka T, Azushima K, Uneda K, Haku S, Tsurumi-Ikeya Y, Toya Y, **Maeshima Y**, Yamashita A, Umemura S. Upstream stimulatory factors 1 and 2 mediate the transcription of angiotensin II binding and inhibitory protein. *J. Biol. Chem*. 288(26): 19238-19249, 2013.
- Hinamoto N, **Maeshima Y**, Saito D, Yamasaki H, Tanabe K, Nasu T, Watatani H, Ujike H, Kinomura M, Sugiyama H, Sonoda H, Kanomata N, Sato Y, Makino H. Renal distribution of Vasohibin-1 in patients with chronic kidney disease. *Acta Medica Okayama*. (*In press*)