

## 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：田邊 克幸  
(岡山大学病院血液浄化療法部)  
対応者：佐藤 靖史  
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 33万7千円，旅費 6万3千円

### [2] 研究経過

本邦における慢性腎臓病 (CKD) 患者は 1,330 万人にのぼると推計されており，CKD から末期腎不全に至り透析療法を必要とする患者数は増加の一途をたどり 31 万人を超える状況にある。また，CKD の進行は心血管イベントのリスクを増加させることが示されている。このような背景から，CKD 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，現在の医療の重要な課題である。

CKD から末期腎疾患に進行する機序として，糸球体硬化と尿細管間質線維化が共通して認められる。傍尿細管毛細血管の障害は尿細管間質線維化を促進するため，血管新生促進因子 VEGF は病変の抑制効果を持つ一方で，糖尿病性腎症では VEGF が糸球体病変の進行に関与することが示唆されている。

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あり，血管新生刺激により血管内皮細胞より産生され，血管新生を抑制するネガティブフィードバック機構を形成する。また，VASH-1 のホモログとして同定された Vasohibin-2 (VASH-2) は，骨髄由来単核球より産生され，血管新生促進作用を持つと考えられている。腎臓病における VASH-1 及び VASH-2 の発現を検討した研究は，本共同研究以外には公表されていない。

本共同研究では，内因性 VASH-1 及び VASH-2 の発現変化が腎糸球体・尿細管間質病変の進展に関与し，その発現調節が腎障害の進展を制御するとの仮説の下に検討を進めている。

以下，研究活動状況の概要を記す。平成 26 年度は，VASH-1 及び VASH-2 ノックアウトマウスを使用し，また，腎疾患患者の臨床検体を使用して，次に示すような成果を得た。

平成 27 年 1 月 10～11 日に，ラフォーレ蔵王にて第 10 回 Vasohibin 研究会が開催されたが，この際に「Clinocopathological analysis of vasohibin-1 and vasohibin-2 expression in chronic kidney diseases」の演題にて，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

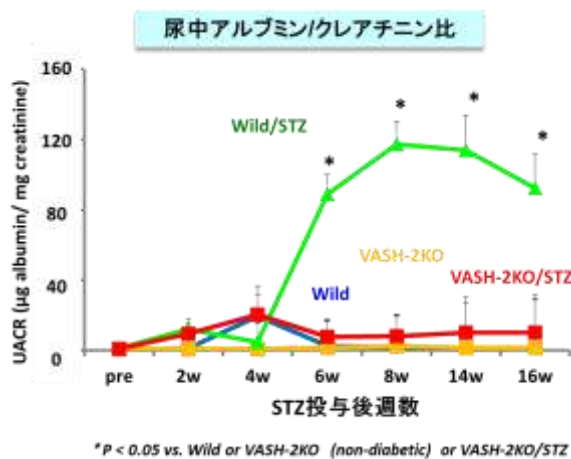
#### (3-1) 研究成果

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おいて 1 型糖尿病モデルと片側尿管結紮モデル (UUO) を作成した。1 型糖尿病モデルでは，VASH-1 欠損マウスにおいて，野生型マウスと比較してアルブミン尿や糸球体肥大，足細胞障害，炎症細胞浸潤などの増悪を認めた。また，マウス由来足細胞での VASH-1 siRNA による発現抑制は，高糖濃度下で糸球体濾過障壁の維持に関与する nephrin や ZO-1 の発現低下につながった。これらの結果は，PLoS ONE 誌に論文発表した。また，UUO モデルでは，VASH-1 欠損マウスにおいて，野生型マウスと比較して間質線維化，単球浸潤，ケモカイン発現増加が認められた。また，培養線維芽細胞での VASH-1 siRNA の導入は，間質型コラーゲン及び TGF- $\beta$  の発現増加や，Smad3 リン酸化の亢進につながった。これらの結果は，Physiological Report 誌に論文発表した。以上から，腎疾患の進行における内因性 VASH-1 の保護的役割が証明された。

第 2 に，CKD 患者からの臨床検体を使用し，血中 VASH-1 レベルが血圧及び年齢と負の相関を示し，その高値が将来の腎機能低下を予測した。これらの結果は，PLoS ONE 誌に論文発表した。また，ヒト腎組織における VASH-1 発現は，CKD 患者では一部の間質炎症細胞と糸球体内のメサンギウム及び半月体領域に染色陽性が認められた。特に，糸球体内の VASH-1 陽性細胞は， $\alpha$ -平滑筋アクチン陽性細胞に一致し，傷害糸球体では間葉系細胞に形質転換した細胞で VASH-1 が産生される可能性が示唆された。これらの結果は，Acta Medica Okayama 誌に論文発表した。これらから，VASH-1 は腎疾患のバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

第3に、VASH-2 ホモ欠損マウスを使用して、1型糖尿病モデルを作成し、内因性VASH-2の糖尿病性腎症の進展における意義を検討した。VASH-2欠損糖尿病マウスは、野生型糖尿病マウスと比較してアルブミン尿の出現がほぼ完全に阻止された(下図)。また、糖尿病に伴う糸球体肥大やメサンギウム基質増加、更に電子顕微鏡での糸球体基底膜肥厚やスリット膜密度低下もVASH-2欠損マウスにおいて改善が認められた。これらの結果は、平成26年の日本腎臓学会学術集会にて発表した。最後に、ヒト腎生検組織におけるVASH-2の発現解析についても検討を進めており、傷害を受けた尿細管上皮細胞での染色陽性が確認されており、その結果は平成26年の米国腎臓学会にて発表した。



### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、学外研究者との交流が飛躍的に活性化し、腎臓病を含めた複数の疾患領域における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ともに、Vasohibin-2の腎臓病増悪効果の可能性は、これらがCKDに対する新規の治療標的であることを証明し、新規の腎疾患治療薬の創薬や腎疾患の進行を予測する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。

### [4] 成果資料

1. 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.
- 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.
- Hinamoto N, Maeshima Y, Saito D, Yamasaki H, **Tanabe K**, Nasu T, Watatani H, Ujike H, Kinomura M, Sugiyama H, Sonoda H, Sato Y, Makino H. Urinary and plasma levels of **vasohibin-1** can predict renal functional deterioration in patients with renal disorders. *PLoS ONE*. 9(6):e96932, 2014.
- Watatani H, Maeshima Y, Hinamoto N, Yamasaki H, Ujike H, **Tanabe K**, Sugiyama H, Otsuka F, Sato Y, Makino H. **Vasohibin-1** deficiency enhances renal fibrosis and inflammation after unilateral ureteral obstruction. *Physiol Rep*. 2(6):pii:e12054, 2014.
- 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*. 68(4):219-233, 2014.
- Hinamoto N, Maeshima Y, Yamasaki H, Nasu T, Saito D, Watatani H, Ujike H, **Tanabe K**, Masuda K, Arata Y, Sugiyama H, Sato Y, Makino H. Exacerbation of diabetic renal alterations in mice lacking **vasohibin-1**. *PLoS ONE*. 9(9):e107934, 2014.