

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 45 万円，旅費 0 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，末期腎不全に至り透析療法を要する患者数は増加の一途をたどり 2014 年末には 32 万人を超えている。また，CKD の進行は心血管イベントを増加させることが示されており，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重要な課題である。

CKD の進行の機序には，糸球体硬化と尿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，糖尿病性腎症では糸球体病変の進行に関与する。また，急性腎障害 (AKI) の発生も CKD の原因として注目されており，AKI から CKD への移行において様々な血管新生関連因子の発現変化が示唆されている。

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，Vasohibin-2 (VASH-2) は，血管新生促進作用を持つと考えられているが，明確な役割は解明されていない。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・尿管間質病変の進展に関与し，その発現調節が腎臓病の進展を制御するかを解明することを目的として行った。

以下，研究活動状況の概要を記す。平成 27 年度は，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 28 年 1 月 23～24 日に，ラフォーレ蔵王にて第 11 回 Vasohibin 研究会が開催されたが，この際に「急性及び慢性の腎臓病における Vasohibin-2 の発現意義についての検討」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

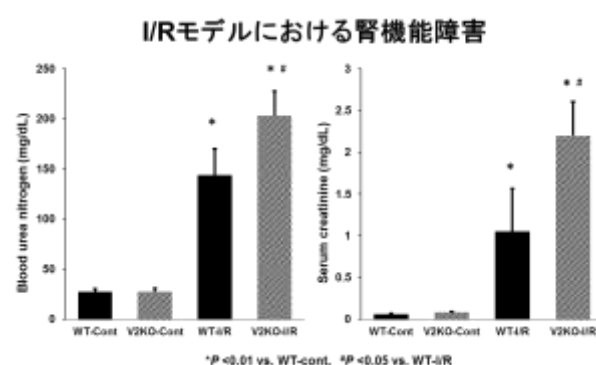
本年度は，以下に示す研究成果を得た。

まず第 1 に，VASH-2 ホモ欠損マウスに対して streptozotocin の腹腔内投与により 1 型糖尿病モデルを作成した。1 型糖尿病を発症した VASH-2 欠損マウスでは，野生型マウスと比較してアルブミン尿の出現が阻止され，電子顕微鏡でもポドサイトのスリット膜密度の減少が抑制されることを前年度に認めていたが，本年度は更に詳細な解析を進めた。糖尿病を伴う VASH-2 欠損マウスでは，野生型糖尿病マウスと比較して糸球体肥大の改善を認め，糸球体内 CD31 陽性内皮細胞面積の増加も有意に抑制されていた。VEGF の発現レベルについては，欠損マウスと野生型マウスの間で差が認められなかったが，VEGF 受容体 (flk-1) の発現増加は抑制され，糖尿病における内因性 VASH-2 の糸球体内皮細胞への作用が示唆された。更に，内因性 VASH-2 は糸球体内でメサンギウム細胞に発現することが認められ，糖尿病の VASH-2 欠損マウスではメサンギウム領域の IV 型コラーゲン蓄積が有意に抑制されていた。これらの結果の一部は，平成 27 年度日本腎臓学会学術集会 (横浜) にて発表した。

第 2 に，CKD への移行が注目されている AKI における VASH-2 の役割を代表的な AKI モデルであるマウスの虚血・再灌流 (I/R) モデルで検討した。I/R は，麻酔下に開腹したマウスの動静脈を 25 分間 clamp して作成した。24 時間後に採血して腎機能の評価したところ，血中尿素窒素とクレアチニンはいずれも VASH-2 欠損マウスで野生型マウスと比較して著明な上昇を認めた (図を参照)。また，皮髄境界部での組織学的傷害も VASH-2 欠損マウスで増悪を認めた。VEGF レベルには明らかな差が認められなかった。野生型マウスの I/R モデルにおける内

因性 VASH-2 の発現は、再灌流から 6 時間後よりも 24 時間後で著明な発現増加がみとめられたことから、VASH-2 は腎障害の修復に関与する可能性が示唆された。これらの結果は、糖尿病性腎症での VASH-2 欠損による保護効果とは対照的であると思われる、VASH-2 は、急性障害での組織修復と慢性障害での組織傷害という二面性を持つ可能性が示唆された。

最後に、ヒト腎生検組織における VASH-2 の発現について、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、その染色性の強度は、患者の高血糖や高血圧などの臨床的な代謝指標と相関することが認められている。



(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ている。これまでの本共同研究で明らかになった Vasohibin-1 による腎保護効果や腎臓病バイオマーカーとしての可能性に加えて、Vasohibin-2 欠損による糖尿病性腎症の改善と AKI の増悪は、これらの腎疾患における病態生理学的役割の解明と新規治療標的としての可能性につながっており、全く新しい機序を持つ腎疾患治療薬の創薬やバイオマーカーの開発という研究領域の開拓に結びつき、今後の更なる発展が十分に期待される。

[4] 成果資料

- 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.