

課題番号 13

腎線維化と血管傷害における Vasohibin の 役割と治療的意義の検討

[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 10 万円

[2] 研究経過

本邦における慢性腎臓病 (CKD) 患者は 1,330 万人と推計されており、末期腎不全から透析療法を必要とする患者は 2017 年末で 33 万人に至っている。CKD の進行は末期腎不全のリスクとなるだけでなく、心血管イベントのリスクを増大させることから、その管理はますます重要性を増しているが、未だ有効な治療戦略は存在しない。本研究では、血管新生関連因子である Vasohibin の CKD における発現意義を検討し、CKD に対する新たな治療標的となる可能性を探ることを目的としている。

CKD は様々な腎臓病または全身疾患を基礎として発生するが、その進行の過程には共通して糸球体硬化と尿細管間質線維化が認められる。糸球体内皮や傍尿細管毛細血管の障害は、糸球体硬化や間質線維化を促進する。血管内皮成長因子 (VEGF) は、毛細血管の維持により保護的に作用し得る。一方、傍尿細管毛細血管の減少は尿細管上皮の虚血から、形質転換成長因子 β (TGF- β) の発現亢進と上皮間葉転換 (EMT) 様変化を介して尿細管間質線維化につながることを示唆されている。

Vasohibin-1 (VASH1) 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、他の血管新生抑制因子とは異なり、血管内皮に対して保護的に作用する。また、Vasohibin-2 (VASH2) は、VASH1 の homologue として同定された血管新生促進因子であり、腫瘍細胞での EMT を促進することが示唆されている。腎臓病の進行過程における Vasohibin 発現の意義を検討した研究は、本共同研究以外には公表されていない。

以下、研究活動状況の概要を記す。平成 30 年度は、次に示すような成果を得た。

平成 31 年 2 月 16 日～17 日に、仙台市内で第 14 回 Vasohibin 研究会が開催されたが、この際に「慢性腎臓病の進行における Vasohibin 発現の関与の解明」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

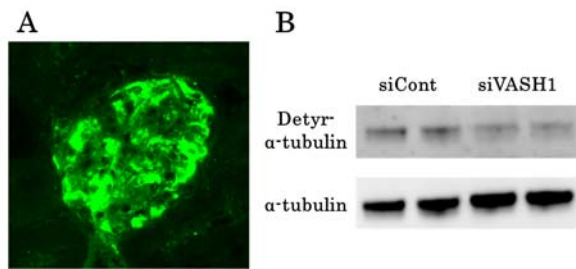
(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第 1 に、前年度から引き続いて糸球体硬化への VASH2 の関与を検討するために、糖尿病性腎症における糸球体病変への VASH2 の関与を確認した。Vash2 遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスと比較して糖尿病の誘発後にアルブミン尿の発生が著明に抑制され、糸球体メサンギウム基質増加やポドサイト傷害が軽度であった。また、培養メサンギウム細胞における VASH2 のノックダウンは、高ブドウ糖刺激による細胞外基質産生を抑制した。以上の結果をまとめて論文化し、PLoS One 誌に掲載された (Masuda K et al. PLoS One 13(4): e0195779, 2018)。

第 2 に、CKD に伴う糸球体病変の進行における Vasohibin 発現の意義を検討した。Vasohibin には微小管 α -tubulin の脱チロシン化酵素活性を持つことが報告されており (Nieuwenhuis et al, Science 2017; Aillaud et al. Science 2017), マウス腎臓における脱チロシン化 α -tubulin の発現を検討したところ糸球体ポドサイトに局在していた (図 A)。野生型マウスと比較して Vash1^{-/-}マウスでは糸球体内の脱チロシン化 α -tubulin が減少していたが、Vash2 遺伝子欠損マウスでは減少が認められず、ポドサイトにおける α -tubulin 脱チロシン化には VASH1 が関与することが示唆された。更に、培養ヒトポドサイトを使用した in vitro の検討では、 α -tubulin の脱チロシン化はポドサイトの分化に伴い増加することが確認された。Vash1 siRNA のトランスフェクションによるポドサイトでの VASH1 ノックダウンは脱

チロシン化 α -tubulin の減少につながり (図 B), VASH1 発現は直接的にポドサイトの微小管の構造・機能を調節する可能性が示唆された。



最後に、腎線維化における VASH2 の関与を検討するために、野生型及び *Vash2* 遺伝子欠損マウスにおいて片側尿管結紮 (UUO) モデルを作成し、腎間質線維化について両群間で比較検討した。モデル作成から 7 日後の腎組織での Masson-trichrome 染色標本では、両群間で間質線維化の有意な差が認められなかったが、間質 Collagen I 陽性領域は、*Vash2* 遺伝子欠損マウスで有意に増加していた。腎線維化への VASH2 発現の関与については、他の腎線維化モデルでも確認が必要である。

(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、腎臓病や腫瘍などの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へと発展している。これまでの共同研究にて明らかになった VASH1 による腎保護効果とその機序としてのポドサイト微小管機能の調節に加えて、VASH2 は糖尿病性腎症における新規の治療標的である可能性が示唆されており、Vasohibin を標的とした腎臓病の新規治療法の開発の可能性につながり、今後の更なる発展が十分に期待される研究領域となっている。

[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.

(2) 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.

(3) 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.

(4) 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.

(5) 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.

(6) 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.

(7) Arata Y, Tanabe K, Hinamoto N, Yamasaki H, Sugiyama H, Maeshima Y, Kanomata N, Sato Y, Wada J. Immunohistochemistry of Vasohibin-2 in Human Kidney Disease: Implications in Impaired Glucose Tolerance and Reduced Renal Function. *Acta Medica Okayama.* 71(5):369-380, 2017.

(8) Tanabe K, Maeshima Y, Sato Y, Wada J.: Antiangiogenic Therapy for Diabetic Nephropathy. *Biomed Res Int* 2017:5724069, 2017

(9) Masuda K, Tanabe K, Ujike H, Hinamoto N, Miyake H, Tanimura S, Sugiyama H, Sato Y, Maeshima Y, Wada J.: Deletion of pro-angiogenic factor vasohibin-2 ameliorates glomerular alterations in a mouse diabetic nephropathy model. *PLoS One* 13(4):e0195779, 2018

(10) Tanabe K, Sato Y, Wada J.: Endogenous Antiangiogenic Factors in Chronic Kidney Disease: Potential Biomarkers of Progression. *Int J Mol Sci* 19(7):E1859, 2018