

令和元年6月2日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19643

研究課題名(和文) レニンアンギオテンシン系に注目した先天性腎尿路奇形の末期腎不全進展機序の解明研究

研究課題名(英文) The study of the mechanism of development in children with congenital anomaly of kidney and urinary tract, in hot attention to renin-angiotensin system

研究代表者

石森 真吾 (Shingo, Ishimori)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：30465950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：先天性腎尿路奇形を有しない正常児における尿検体を用い、循環レニン・アンギオテンシン系とは別に、局所レニン・アンギオテンシン系の評価項目である尿中アンギオテンシノーゲン濃度を測定した。その結果、正常児比較して、多嚢胞性異形成腎群のみが尿中アンギオテンシノーゲン濃度が有意に高値であった。片側腎症例と多嚢胞性異形成腎において尿中アンギオテンシノーゲン濃度を比較すると多嚢胞性異形成腎例が高値であったが有意な差はなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多嚢胞性異形成腎の発生には、循環レニン・アンギオテンシン系とは別の、局所レニン・アンギオテンシン系の関連があるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：The level of urinary Angiotensinogen between in Hydronephrosis and control group were no statistical difference. Compared with control and Hydronephrosis group, urinary Angiotensinogen level in multiple cystic dysplastic kidney group was significantly higher.

研究分野：小児科学

キーワード：レニン・アンギオテンシン系 先天性腎尿路異常 慢性腎臓病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

先天性腎尿路奇形 (CAKUT: Congenital Anomalies of Kidney and Urinary Tract) は腎の発生過程に異常を来たす疾患群であり、小児における慢性腎臓病 (CKD) や末期腎不全 (ESKD) の原因のうち最多を占める。CAKUT 患者においては胎児期よりCKD への進行が始まり、出生後に緩徐に進行し、最終的にESKD へと至るが、そのCKD 進展機序は未だに不明である。

近年になって「CKD 進展の病態におけるRAS 系の関与」が報告されている。その病態として腎間質線維化が大きく関連しており、具体的にはマウス血中RAS 系濃度の上昇が腎線維化障害を来たすことが報告された (Mori T, et al. Hypertension 2004)。またその機序として、アンギオテンシンII 持続投与ラットでは活性酸素種 (ROS) 産生が亢進して尿細管障害を誘導すること (Jennings BL, et al. Am J Physiol Renal Physiol 2012)、アルドステロンは培養近位尿細管細胞のミトコンドリア障害を惹起し、さらに臓器の線維化に重要な役割を果たす Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) を引き起こすこと (Yuan Y, et al. Free Radic Biol Med 2012) が報告された。にもかかわらずCKD 進展機序の未解明なCAKUT とRAS 系による腎間質障害との関連についてはこれまで一切検討がなされていない。

CAKUT におけるCKD 進展機序の解明は、長期予後の改善のみならず、ESKD 管理による医療経済抑制の点からも必要不可欠である。

2. 研究の目的

学術的背景を踏まえ、本研究ではCAKUT に対して「潜在性のRAS 系亢進」からアプローチし、CAKUT における未解明なCKD 進展機序を解明する。さらにその結果をもとにCAKUT に対するCKD 進展予防の新規治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

尿中落下細胞を用いた尿細管上皮細胞の培養(患者の尿中落下細胞から尿細管上皮細胞を培養採取し、Cell line を作成)し、これらを用いて免疫染色、ウエスタンブロット法を行い、RAS系関連遺伝子 (REN、AGT、ACE、AGTR1、AGTR2) と以下の発現との関連を解析する。

(1) RAS 系関連蛋白と間質線維化マーカーとの関連

尿細管上皮細胞を用いて免疫染色、ウエスタンブロット法を行い、RAS系関連遺伝子 (REN、AGT、ACE、AGTR1、AGTR2) と間質線維化マーカー (コラーゲン、フィブロネクチン等) の発現の関連を解析する。さらに尿細管上皮細胞から抽出したcDNA を用いて、RAS 系関連遺伝子発現と間質線維化マーカーの発現についてリアルタイム定量PCR で定量を行い、それぞれの相関を解析する。

(2) RAS 系関連蛋白と活性酸素関連因子との関連

尿細管上皮細胞から抽出したcDNA を用いて、RAS 系関連遺伝子発現と活性酸素関連因子 (ROS、HO、O₂⁻など) の発現についてリアルタイム定量PCR で定量を行い、それぞれの相関を解析する。

(3) RAS 系関連蛋白とミトコンドリア障害関連因子との関連

尿細管上皮細胞から抽出したcDNA を用いて、RAS 系関連遺伝子発現とミトコンドリア障害関連因子 (PGC-1 α 等) の発現についてリアルタイム定量PCR で定量を行い、それぞれの相関を解析する。

(4) RAS 系関連蛋白とEMT との関連

尿細管上皮細胞から抽出したcDNA を用いて、RAS 系関連遺伝子発現とEMT (α SMA 等) の発現についてリアルタイム定量PCR を行い、それぞれの相関を解析する。

(5) RAS 系関連蛋白と間質線維化促進因子との関連

尿細管上皮細胞から抽出したcDNA を用いて、RAS 系関連遺伝子発現と間質線維化促進因子 (TGF- β 、PAI-1 等) の発現についてリアルタイム定量PCR を行い、それぞれの相関を解析する。

(6) CAKUT 症例の新生児期におけるRAS 系阻害薬や活性酸素阻害薬の効果の解析

尿細管上皮細胞を用いて、RAS 系阻害薬を投与することによるRAS 系関連遺伝子と間質線維化マーカーの発現の関連を免疫染色、ウエスタンブロット法を行い解析する。さらに尿細管上皮細胞から抽出したcDNA を用いて、RAS 系阻害薬を投与することによるRAS 系関連遺伝子発現と間質線維化マーカーの発現の相関を、リアルタイム定量PCR で定量を行って解析する (CKD 発症前のRAS 系阻害薬の有用性を検討する)。

4. 研究成果

先天性腎尿路奇形を有しない正常児における尿検体を用い、循環レニン・アンジオテンシン系とは別に、局所レニン・アンジオテンシン系の評価項目である尿中アンジオテンシノーゲン濃度を測定した。その結果、正常児比較して、多嚢胞性異形成腎群のみが尿中アンジオテンシノーゲン濃度が有意に高値であった。片側腎症例と多嚢胞性異形成腎において尿中アンジオテンシノーゲン濃度を比較すると多嚢胞性異形成腎例が高値であったが有意な差はなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：飯島一誠

ローマ字氏名：Kazumoto Iijima

研究協力者氏名：飯島一誠

ローマ字氏名：Kandai Nozu

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。