

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10144

研究課題名(和文)慢性腎臓病の発症・進展におけるADAM17の役割解明

研究課題名(英文)Role of ADAM17 in the progression of chronic kidney disease

研究代表者

香美 祥二 (KAGAMI, Shoji)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教授

研究者番号：00224337

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病(CKD)は慢性、進行性であり有効な治療法がないために、新しい治療法や診断法の開発に向け研究を行った。ADAM17活性が、CKDの進行に関わるレニン・アンジオテンシン系(RAS)の活性化を調整している可能性が示唆された。RAS活性に関わる腎内のACE1/2比の重要性も示唆された。今後、ADAM17を標的とした腎内RAS活性調節機構を検討し、新規のCKD進行を阻害する手段の開発を進める。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児の慢性腎臓病(CKD)は慢性、進行性であり、少なからず透析や腎移植が必要となる。この場合、小児の心身の発育は阻害され次世代の社会人として活躍が望めなくなる。本研究では、CKDの進行を止める、あるいは改善するための手段を開発するために行われた。その結果、ADAM17活性が、CKDの進行に関わるレニン・アンジオテンシン系(RAS)の活性化を調整している可能性が示唆された。有効な治療法がない小児CKDの進行を抑制するために、ADAM17活性を調整する手段の開発を進めていく。

研究成果の概要(英文)：Because chronic kidney disease (CKD) is chronic, progressive, and there is no effective treatment, present research was undertaken to develop new treatments and diagnostics. This research suggests that ADAM17 activity may regulate the activation of the renin-angiotensin system (RAS) involved in CKD progression. The significance of ACE1 / 2 ratio in the kidney related to RAS activity was also suggested. In the future, we will examine the mechanism of regulating RAS activity in the kidney targeting ADAM17 and develop new means to inhibit CKD progression.

研究分野：小児腎臓病学

キーワード：ADAM17 レニン・アンジオテンシン系 アンジオテンシン II 慢性腎臓病 小児 透析 腎移植 進行

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

小児の難治性 CKD の多くは、疾患原因に関わらず炎症性糸球体障害が慢性的に繰り返される結果、糸球体ポドサイト(POD)の消失や細胞外基質(ECM)異常蓄積による毛細血管腔の消失を特徴とする糸球体硬化へと進展する。腎糸球体は、糸球体内皮細胞(GEC)、メサンギウム細胞(MC)、POD らの糸球体構成細胞と細胞を支持する ECM により構築・機能維持されており、それら細胞-細胞間、細胞-ECM 間の精巧な相互作用が炎症性破綻を惹起する腎障害因子により進行性糸球体病変が形成される。現在、CKD 進行に関わる最も確立された障害因子は、RAS 活性化により生ずる Ang II であり、それが故に、実地臨床でも Angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEi)や Ang II type1 receptor (AT1R) blocker (ARB)らの RAS 阻害薬が CKD 患者に処方され、蛋白尿減少作用や糸球体硬化進展抑制が期待できることが高いエビデンスレベルで証明されている。しかしながら、Ang II がどのように糸球体内で産生され(糸球体 RAS 経路活性化)どのように分解されて糸球体内量を調整し、どのような局所作用を及ぼしているのか未だ不明な点が多い。

我々はこれまでに、糸球体局所のRAS活性化により生ずるAng IIが糸球体血行動態変化とは無関係に糸球体硬化病変を誘導することを培養細胞や実験腎炎モデルを用いて世界に先駆けて明らかにしてきた。加えて我々は、IgA腎症を代表とする慢性・進行性の小児CKD患者においては、GECのACE依存性Ang II産生系、MCとPODにおけるACE2依存性のAng II分解系が同時に作動しており、その発端は障害GECのアンジオテンシノーゲン(AGT)発現上昇にあることを見いだしている。さらに、尿中AGTは小児CKDにおける尿蛋白(アルブミン)と同様の糸球体病変重症度やCKDの診断・治療のバイオマーカーとなることを報告している。最近、ACE2の切断放出に働くsheddase、ADAM17の糸球体発現増加がCKD患者に認められることが報告されている(Am J Physiol 297:781,2009)。ADAM17はACE2の他に炎症性サイトカイン(TNF-、IL-6)の膜型前駆体やその受容体、種々の接着分子を分解する作用があり、現在、多くの炎症性疾患の発症原因として注目を浴びている。

### 2. 研究の目的

レニン・アンジオテンシン系(RAS)は血圧や体液量を制御する循環系調節機構という古典的コンセプトの時代を経て、組織局所に発現する RAS 構成成分により産生されたアンジオテンシン II(AngII)が各種臓器の炎症・線維化を促進するという新たな組織 RAS コンセプトの時代へとその存在意義が発展してきた。従来より、我々は腎臓局所に存在する RAS により産生された Ang II が、TGF- などの増殖因子の発現増加並びに細胞内シグナル(ERK1/2、ERK5 シグナル)を介して慢性腎臓病(CKD)の進展に寄与することを提唱してきた。本研究の目的は、CKD 進展を左右する腎臓糸球体 RAS の活性化機構(Ang II 産生・分解機構)における a disintegrin and metalloproteinase (ADAM)17 の役割を分子病的に解明することにより、現存する RAS 阻害薬では得られない腎糸球体に選択性の高い Ang II 作用(炎症・線維化)阻害手段や新規の CKD バイオマーカーを同定し新たな小児 CKD の進展阻止戦略を組み立てることである。

### 3. 研究の方法

- 1) 小児 CKD 疾患、進行性 CKD モデルラット・マウス(糸球体管内あるいは管外障害モデル)や培養糸球体細胞(MC、POD)を用いて、ADAM17 が各種障害や障害誘導因子(Ang II、種々の炎症性サイトカイン)それぞれに対してどのように発現変化、誘導されるかを検討する。
- 2) 同時に、単離糸球体や培養細胞における ADAM17 発現・活性化、ACE2 発現、断片化 ACE2、Ang ペプチド(Ang I、Ang II(1-8)、Ang 1-7)を解析し、ADAM17 活性阻害の影響を検討する。
- 3) 次に、進行性 CKD モデルラット・マウスにて、ADAM17 阻害薬や ADAM17 シグナル阻害にて CKD 進展阻害効果を検討する。
- 4) 最後に、尿中の断片化 ACE2、ADAM17 活性を測定し、CKD の重症度と比較検討することにより新しい CKD 進展を反映するバイオマーカーを開発する。
- 5) 進行性 CKD モデルラット・マウスで、in vivoADAM17 阻害薬や ADAM17 シグナル阻害時における尿中の断片化 ACE2、ADAM17 活性を測定し、将来の臨床応用を図る。

### 4. 研究成果

- 1) 糸球体細胞の培養系細胞(糸球体内皮細胞(GEC)、メサンギウム細胞(MC))は ADAM17(分子量 80-100KD)と ACE1/2 蛋白を発現していた。
- 2) 腎炎進展因子であるアンジオテンシン II(Ang II)や種々のサイトカイン刺激(IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , EGF, RGF- $\beta$ )により ADAM17 は発現増強した。
- 3) ADAM17 が、培養 GEC の ACE1/2 発現比率に影響を与える。その作用は種々のサイトカイン刺激により増強した。

4) 尿を生化学的にフィルターを用いて濃縮し分画させることにより、尿中の ACE1/2 と ADAM17 活性を測定することができた。

今後は、ADAM17 を標的とした腎内 RAS 活性調節機構 ( Ang II ,Ang 1-7,Ang 1-8 産生量 ) を検討し、新規の CKD 進行を阻害する手段の開発を進める。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kato H, Nangaku M, Okada H, Kagami S.	4. 巻 22
2. 論文標題 Controversies of the classification of TMA and the terminology of aHUS.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin Exp Nephrol.	6. 最初と最後の頁 979-980
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10157-017-1524-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kato H, Miyakawa Y, Hidaka Y, Inoue N, Ito S, Kagami S, Kaname S, Matsumoto M, Mizuno M, Matsuda T, Shimono A, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Okada H.	4. 巻 23
2. 論文標題 Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Exp Nephrol	6. 最初と最後の頁 65-75
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10157-018-1609-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ito S, Hidaka Y, Inoue N, Kaname S, Kato H, Matsumoto M, Miyakawa Y, Mizuno M, Okada H, Shimono A, Matsuda T, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Kagami S.	4. 巻 23
2. 論文標題 Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Exp Nephrol	6. 最初と最後の頁 112-121
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10157-018-1610-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shono M, Urushihara M, Suga K, Watanabe N, Saijo T, Nakagawa R, Kagami S.	4. 巻 23
2. 論文標題 Enhanced angiotensinogen expression in neonates during kidney development.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Exp Nephrol.	6. 最初と最後の頁 537-543
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10157-018-1662-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura N, Watanabe H, Okamura K, Kagami S.	4. 巻 65
2. 論文標題 Assessment of renal function in Japanese children with malignancies using serum cystatin C.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Med Invest	6. 最初と最後の頁 231-235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2152/jmi.65.231.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kato H, Nangaku M, Okada H, Kagami S.	4. 巻 -
2. 論文標題 Controversies of the classification of TMA and the terminology of aHUS.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clin Exp Nephrol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10157-017-1524-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Terada T, Urushihara M, Saijo T, Nakagawa R, Kagami S.	4. 巻 176
2. 論文標題 (Pro)renin and (pro)renin receptor expression during kidney development in neonates.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Eur J Pediatr.	6. 最初と最後の頁 183-189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00431-016-2820-9.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Urushihara M, Kagami S.	4. 巻 32
2. 論文標題 Role of the intrarenal renin-angiotensin system in the progression of renal disease.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pediatr Nephrol.	6. 最初と最後の頁 1471-1479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00467-016-3449-7.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 漆原真樹、木下ゆき子、近藤秀治、永井隆、藤岡啓介、香美祥二
2. 発表標題 ラット半月体形成性腎炎モデルにおける（プロ）レニン受容体を介した病態機序と直接レニン阻害薬の治療効果
3. 学会等名 第60回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 榊優希、漆原真樹、藤岡啓介、木下ゆき子、香美祥二
2. 発表標題 小児IgA腎症における尿中アンジオテンシン変換酵素2と糸球体病変の関係
3. 学会等名 第52回日本小児腎臓病学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田山貴広、藤岡啓介、木下ゆき子、漆原真樹、香美祥二
2. 発表標題 溶連菌感染後急性糸球体腎炎との鑑別を要したC3腎症の1例
3. 学会等名 第34回中国四国小児腎臓病学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木下ゆき子、藤岡啓介、漆原真樹、香美祥二
2. 発表標題 TSC2/PKD1 Contiguous Gene Deletion Syndrome (PKDTS) の一例
3. 学会等名 第47回日本腎臓学会西部学術大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	漆原 真樹 (URUSHIHARA Maki) (50403689)	徳島大学・病院・講師  (16101)	
研究分担者	玉置 俊晃 (TAMAKI Toshiaki) (80179879)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・教授  (16101)	