

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007-2008
 課題番号：19590971
 研究課題名（和文）：慢性腎臓病における ADMA 代謝と微小血管障害
 -腎機能障害と蛋白尿に関して-
 研究課題名（英文）：ADMA metabolism and microvascular damage in chronic renal diseases
 研究代表者：奥田 誠也（Okuda Seiya）
 久留米大学・医学部・教授
 研究者番号：80158823

研究成果の概要：

Asymmetric dimethylarginine(ADMA)は一酸化窒素(NO)の内因性合成阻害物質で、血管内皮機能障害により心血管病に密接に関わる。慢性腎臓病（CKD）では血中 ADMA 濃度が上昇し、このことが CKD で頻度が増加する心血管病に関わると考えられる。一方、CKD における腎機能障害の進行にも内皮機能は重要と思われ、CKD 患者では蛋白尿、腎機能低下に伴って ADMA が増加している。本研究では CKD モデルラットに ADMA の分解酵素である DDAH を強制発現させ、ADMA を抑制することにより、腎機能、蛋白尿および腎組織病変も著明に改善することを明らかにし、ADMA-DDAH 系をターゲットにした治療が CKD 治療に有望であることを示した。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2007年度 | 1,700,000 | 510,000 | 2,210,000 |
| 2008年度 | 1,600,000 | 480,000 | 2,080,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：慢性腎臓病、CKD、一酸化窒素、内皮機能障害、蛋白尿、ADMA DDAH

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病(CKD)患者は約 1000 万人と推計されており、将来の透析患者と心血管病発症の増加が大きな問題である。CKD における心血管病の発症増加には内皮機能障害の関与が疑われる。内皮機能に最も重要なものは一酸化窒素(NO)であるが、NO は L-アルギニンから NO 合成酵素によって作られるが、生体内には L-アルギニンがジメチル化された asymmetric dimethylarginine (ADMA)が存在し、NO の産生を阻害している。CKD では

血中 ADMA 濃度が増加しており、これが、内皮機能を障害することで心血管病の発症を増加させたり、腎機能障害に関与している可能性がある。しかし、何故 CKD で、血中 ADMA が増加するのか、また ADMA の血中濃度を落とすことで心血管病や腎機能障害を抑制できるかは分かっていない。

2. 研究の目的

CKD における NO 合成阻害物質の血中濃度上昇の機序について明らかにする。また血中

ADMA 濃度を下げることによって CKD における心血管病および腎機能障害の進行を抑制できるかを検討する。

3. 研究の方法

CKD ラットモデル(5/6 腎臓摘出)にて、血中 ADMA、尿中 ADMA、各臓器(肝臓、腎臓など)での ADMA 合成酵素(PRMT)の発現、ADMA 分解酵素(DDAH)の発現を検索する。また同モデルに DDAH の遺伝子を強制発現し、ADMA の濃度を低下させることで、血圧、腎機能、蛋白尿、心重量、腎組織変化に及ぼす影響を解析した。

4. 研究成果

1) ADMA 期戸籍の機序

CKD ラットモデルにおいては、腎機能の低下に伴い、血中 ADMA 濃度は増加していたが尿中 ADMA 排泄はむしろ増えており、CKD での ADMA 蓄積は尿中排泄低下によるものではなかった。一方、肝臓と腎臓での ADMA の合成酵素 PRMT の発現は増加し、分解酵素 DDAH の発現は低下しており、ADMA の代謝異常が CKD では存在することが明らかになった。

2) ADMA と腎組織病変

このモデルでの糸球体硬化度と間質の線維過剰も ADMA の血中濃度と相関していた。

3) DDAH 強制発現による ADMA 濃度、血圧、心重量への影響

CKD ラットモデルにアデノウイルスを組み込んだ ADMA の分解酵素 DDAH1 の遺伝子を尾静脈より投与すると、ウイルスは主として肝臓に取り込まれ、発現が増加していることは確かめられた。DDAH の強制発現 14 日目の血中 ADMA 濃度はコントロールの CKD ラットに比して有意に低下し、それに伴い血圧も低下していた。また心重量も DDAH 強制発現ラットではすくなくかった。

4) DDAH 強制発現による腎機能、蛋白尿の影響

DDAH 強制発現は CKD ラットモデル 14 日目の GFR の低下を抑制し、蛋白尿も減少させた。

5) DDAH 強制発現による腎組織変化

CKD、JG-12 による内皮細胞染色では、CKD モデル腎臓の糸球体毛細管、傍尿細管周囲毛細管の喪失が著明であったが、DDAH の強制発現により改善された。それに伴って糸球体硬化、間質の繊維化も抑制された。また間質尿細管での繊維化に重要な増殖因子 TGF-beta の尿細管細胞での発現の増加も DDAH により抑制された。

CKD における心腎連関を介在する因子として重要な血管内皮障害の主要な原因分子である ADMA の、蓄積機序について明らかになった。また ADMA の蓄積は内皮機能障害をかい

して、心血管病のみならず CKD の進展に関与する重要な因子であり、CKD 患者の新しい治療標的と期待される。今後も ADMA の制御機構をとく更なる基礎的臨床的研究がのぞまれる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 29 件)

1. Ueda S, Yamagishi S, Matsumoto Y, Kaida Y, Fujimi-Hayashida A, Koike K, Tanaka H, Fukami K, Okuda S. Involvement of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in glomerular capillary loss and sclerosis in a rat model of chronic kidney disease (CKD) *Life Sciences* in press (査読有)
2. Shibata R, Ueda S, Yamagishi S, Kaida Y, Matsumoto Y, Fukami K, Hayashida A, Matsuoka H, Kato S, Kimoto M, Okuda S. Involvement of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in tubulointerstitial ischemia in early phase of diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 24: 1162-1169, 2009 (査読有)
3. Fujimura T, Yamagishi S, Ueda S, Fukami K, Shibata R, Matsumoto Y, Kaida Y, Hyayashida A, Koike K, Matsui T, Nakamura K, Okuda S. Administration of pigment epithelium-derived factor (PEDF) reduces proteinuria by suppressing decreased nephrin and increased VEGF expression in the glomeruli of adriamycin-injected rats. *Nephrol Dial Transplant*. , 24:1397-1406,2009 (査読有)
4. Yamagishi S, Matsui T, Ueda S, Fukami K, Okuda S. Clinical utility of acarbose, alpha-glucosidase inhibitor on cardiometabolic disorders. *Curr Drug Metab.*;10: 159-163, 2009 (査読有)
5. Nagano M, Fukami K, Yamagishi SI,

- Ueda S, Kaida Y, Matsumoto T, Yoshimura J, Hazama T, Takamiya Y, Kusumoto T, Gohara S, Tanaka H, Adachi H, Okuda S. Circulating Matrix Metalloproteinase-2 is an independent correlate of proteinuria in patients with chronic kidney disease. *Am J Nephrol*. 29:109-115, 2008 (査読有)
6. Yamagishi S, Ueda S, Nakamura K, Matsui T, and Okuda S. Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Diabetic Vascular Complications. *Curr Pharm Des* 14: 2613-2618, 2008 (査読有)
 7. Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T, Ueda S, Fukami K, Okuda S. Agents that block advanced glycation end product (AGE)-RAGE (receptor for AGEs)-oxidative stress system: a novel therapeutic strategy for diabetic vascular complications. *Expert Opin Investig Drugs*. 17:983-96, 2008 (査読有)
 8. Ueda S, Yamagishi S, Fukami K, Hayashida A, Kaida Y, Takamiya Y, Okuda S. Implication of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in endothelial cell growth process in atherosclerosis. *Cell Growth Processes: New Research*. Chapter IV, 123-137, 2008. (Nova publishers) (査読有)
 9. Fukami K, Yamagishi S, Ueda S, Okuda S. Role of AGEs in diabetic nephropathy. *Current Pharm Design*, 14: 946-952, 2008 (査読有)
 10. Yamagishi S, Ueda S, Matsui T, Nakamura K, Okuda S. Role of advanced glycation end products (AGEs) and oxidative stress in diabetic retinopathy. *Curr Pharm Des*. 14:962-8, 2008 (査読有)
 11. Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T, Ueda S, Fukami K, Okuda S. Pleiotropic effects of atorvastatin of vascular injury in diabetes. *BDL Cholesterol: Targets, Control and Therapy*. 2008 (査読有)
 12. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K, Inoue H, Takeuchi M, Ueda S, Fukami K, Okuda S, Imaizumi T. Olmesartan blocks advanced glycation end products (AGEs)-induced angiogenesis in vitro by suppressing receptor for AGEs (RAGE) expression. *Microvasc Res* 75: 130-134, 2008 (査読有)
 13. Yoshida Y, Yamagishi S, Ueda S, Okuda S, Yamakawa R. Aqueous humor levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) are positively associated with monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in patients with uveitis. *Br J Ophthalmol*. 92(1):93-4, 2008 (査読有)
 14. Ueda S, Yamagishi S, Kaida Y, Okuda S. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) may be a missing link between cardiovascular disease (CVD) and chronic kidney disease (CKD). *Nephrology* 12: 582-590, 2007 (査読有)
 15. Matsumoto Y, Ueda S, Yamagishi S, Matsuguma K, Shibata R, Fukami K, Matsuoka H, Imaizumi T, Okuda S. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase prevents progression of renal dysfunction by inhibiting loss of peritubular capillaries and tubulointerstitial fibrosis in a rat model of chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 18:1525-1533, 2007 (査読有)
 16. Ueda S, Yamagishi S, Takamiya Y, Kaida

- Y, Okuda S. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease. *Research Advances in Nephrology*. 1: 1-12, 2007 (査読有)
17. Yoshida Y, Yamagishi S, Ueda S, Yoshimura K, Okuda S, Yamakawa R. Aqueous humor levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) are correlated with pigment epithelium-derived factor (PEDF) in patients with uveitis. *J Int Med Res* 35: 892-895, 2007 (査読有)
 18. Ueda S, Yamagishi S, Matsumoto Y, Okuda S. Role of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in chronic kidney disease. *Current Enzyme Inhibition* 3: 284-290, 2007 (査読有)
 19. Yamagishi S, Ueda S, Matsui T, Nakamura K, Imaizumi T, Takeuchi M, Okuda S. Pigment epithelium-derived factor prevents advanced glycation end products-elicited endothelial nitric oxide synthase reduction through its ant-oxidative properties. *Protein Pept Lett* 14: 832-5, 2007 (査読有)
 20. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K, Inoue H, Takeuchi M, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. Olmesartan blocks advanced glycation end product (AGE)-evoked inflammatory reactions in endothelial cells by suppressing reactive oxygen species generation. *Ophthalmic Res*, 40: 10-15, 2007 (査読有)
 21. Yamagishi S, Ueda S, Okuda S. Food-derived advanced glycation end products (AGEs): A novel therapeutic target for various disorders. *Current Pharmaceutical Design* 13: 2832-6. 2007. (査読有)
 22. Ueda S, Yamagishi S, Matsumoto Y, Fukami K, Okuda S. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is a novel emerging risk factor for cardiovascular disease and development of renal injury in chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 11:115-121, 2007 (査読有)
 23. Yamagishi S, Ueda S, Okuda S. A possible involvement of crosstalk between advanced glycation end products (AGEs) and asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous nitric oxide synthase inhibitor in accelerated atherosclerosis in diabetes *Med Hypotheses* 69: 922-4, 2007 (査読有)
 24. Yamagishi S, Fukami K, Ueda S, Okuda S. Molecular mechanisms of diabetic nephropathy and its therapeutic intervention. *Current Drug Targets*. 8: 952-9, 2007 (査読有)
 25. Fukami K, Yamagishi S, Ueda S, Okuda S. Novel therapeutic targets for diabetic nephropathy. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 7: 83-92, 2007 (査読有)
 26. Kaneyuki U, Ueda S, Yamagishi SI, Kato S, Fujimura T, Shibata R, Hayashida A, Yoshimura J, Kojiro M, Oshima K, Okuda S. Pitavastatin inhibits lysophosphatidic acid-induced proliferation and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic smooth muscle cells by suppressing Rac-1-mediated reactive oxygen species generation. *Vascul Pharmacol*. 46: 286-292, 2007. (査読有)
 27. Tanaka M, Komatsu N, Terakawa N, Yanagimoto Y, Oka M, Sasada T, Mine T,

- Gouhara S, Shichijo S, Okuda S, Itoh K.
Increased levels of IgG antibodies against peptides of the prostate stem cell antigen in the plasma of pancreatic cancer patients. *Oncol Rep.* 18:161-166, 2007 (査読有)
28. Koike K, Iida S, Usui M, Matsumoto Y, Fukami K, Ueda S, Tamaki K, Kato S, Okuda S. Adult-onset acute tubulointerstitial nephritis and uveitis with fanconi syndrome. Case report and review of the literature. *Clin Nephrol.* 67:255-9,2007 (査読有)
29. Yoshimura J, Kato S, Tamaki K, Kohno K, Kaneyuki U, Maeda M, Saikusa-Itoh Y, Hayashida A, Iida S, Suefuji H, Okuda S. Mesangiolytic glomerulopathy after radiotherapy and chemotherapy of gastric lymphoma. *Intern Med.* 46(22):1861-1865, 2007 (査読有)
30. Sanai T, Okuda S, Yoshimitsu T, Oochi N, Kumagai H, Katafuchi R, Harada A, Chihara J, Abe T, Nakamoto M, Hirakata H, Onoyama K, and Iida M. Nodular Glomerulosclerosis in patients without any manifestation of diabetes mellitus. *NEPHROLOGY* 2007;12,69-73 (査読有)

[学会発表] (計 1 件)

1. Kaida Y, Okuda S et al: Possible involvement of albuminuria-elicited ADMA accumulation in accelerated atherosclerosis in CKD
4th International symposium on ADMA
August 29, 2009 Bregenz

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奥田 誠也

久留米大学・医学部・教授

研究者番号 80158823

(2) 研究分担者

上田 誠二

久留米大学・医学部・講師

研究者番号 80322593

(3) 連携研究者