

平成23年5月31日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590958

研究課題名(和文) 慢性腎臓病におけるバゾヒビンの機能的意義の解明と治療応用

研究課題名(英文) Analysis on the functional role of Vasohibin in CKD and therapeutic application

研究代表者

前島 洋平 (MAESHIMA YOUHEI)

岡山大学・岡山大学病院・講師

研究者番号：10343287

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病(CKD)患者数は日本で1,330万人と推計される。CKDは末期腎不全のみならず心血管疾患の危険因子である。本研究では、内在性血管新生 negative feedback 制御因子 Vasohibin-1 の CKD における機能的解析と治療的試みを行った。アデノウイルスベクターによる Vasohibin-1 過剰発現にてマウス1型及び2型糖尿病モデルにおける腎症進展抑制効果が観察された。抗血管新生作用のみならず、メサンギウム細胞、糸球体足細胞への直接作用による改善効果が観察された。Vasohibin-1 の CKD 治療薬としての可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The population of CKD patients in Japan is estimated as 13.3 million people. CKD is a risk factor of end-stage renal disease as well as cardiovascular disorders. In the present study, we examined the functional role of Vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis, in CKD and its potential therapeutic effects. Adenoviral transfer of Vasohibin-1 resulted in the amelioration of renal alterations in experimental models of mouse type 1 and 2 diabetic nephropathy. Vasohibin-1 exhibited anti-angiogenic effects as well as direct therapeutic effects on mesangial cells and podocytes. These results suggest the potential therapeutic efficacy of Vasohibin-1 in CKD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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、血管新生、糖尿病性腎症、Vasohibin-1、アデノウィルス

1. 研究開始当初の背景

2002年にCKD(慢性腎臓病)の概念が米国より提唱されたが、CKD人口は本邦にて1,330万人と推計される。CKDから末期腎不全に至り透析療法を施行される患者数は本邦にて年々増加し約29万人に至る(2009年末)。またCKDは心血管疾患の危険因子であり進展制御法の開発が国家的課題である。CKDの主要な原疾患は、糖尿病性腎症、腎硬化症、慢性腎炎であるが、末期腎不全に至る際に糸球体硬化・尿細管間質の線維化が共通して観察される。

血管新生は促進因子と抑制因子のバランスにより調節されるが、腫瘍、糖尿病性網膜症、等の病態進展に関与する主要な血管新生促進因子VEGFは、糸球体内皮修復作用や傍尿細管毛細血管数増加/尿細管間質病変改善作用を有する一方、血管透過性・炎症を促進する。糖尿病性腎症早期における糸球体でのVEGF発現増加、中和型抗VEGF抗体投与による腎症進展抑制効果が報告された。

Vasohibin-1(VASH-1)は生体内での血管新生のnegative-feedback調節を司るユニークな因子である。これまでにVASH-1による抗腫瘍効果、網膜血管新生抑制作用、動脈内膜肥厚の抑制効果が報告されている。VASH-1は血管新生の終息/血管の成熟に関与すると考えられる。さらに、VASH-1は内皮細胞のアポトーシスを抑制し内皮細胞障害抑制作用を持つと考えられる。

2. 研究の目的

VASH-1による血管新生、血管成熟の調節が糸球体及び尿細管間質病変の進展に関与する、その発現調節によりCKD進行を抑制し得る新規治療法の開発が可能となるとの仮説の下に、以下の検討を行う。

- (1) 1型及び2型糖尿病マウスモデルを用い、VASH-1発現アデノウィルスベクター(AdVASH1)を投与し腎症治療効果を検討する。
- (2) CKD患者血漿・尿中VASH-1濃度測定、腎生検組織におけるVASH-1発現と臨床指標との関連性を検討する。
- (3) VASH-1欠損マウスにおける腎形態学的変化を観察し、1型糖尿病モデルを惹起して腎症変化を検討する。

3. 研究の方法

- (1) 1型・2型糖尿病マウスモデルにおけるAdVASH1投与による腎症改善効果の検討
1型(Streptozotocin: STZ投与)、2型(db/db)糖尿病モデルマウスにAdVASH1を尾静脈内投与し、各々4、8週後に屠殺し尿、血液、腎組織等を採取し腎機能・アルブミン尿測定、免疫染色、Western blot, real-time PCR等を行い解析する。
- (2) CKD患者血漿・尿中VASH-1濃度、腎組織VASH-1発現と臨床指標との関連性の検討
当科外来、入院CKD患者よりICを得た後に血漿、尿検体を採取し、ELISA法にてVASH-1濃度を測定する。腎生検組織を用いて、VASH-1免疫染色を行う。各種臨床指標との関連性を検討する。

(3) VASH-1欠損マウスにおける1型糖尿病モデル惹起時の腎症変化の検討

成体VASH-1 +/-マウスより腎組織を採取し、形態学的変化について観察する。VASH-1 +/-マウス及び野生型マウスに1型糖尿病を惹起し(STZ投与)16週後に屠殺、アルブミン尿、腎機能、腎組織学的変化等を検討する。

4. 研究成果

本研究にて、1型及び2型糖尿病モデルマウスにおけるVASH-1発現adenovirus vectorによる治療効果(アルブミン尿抑制、糸球体肥大の抑制、メサンギウム基質増加の抑制、単球浸潤の抑制)を観察し得た。VASH-1投与による腎症治療効果の作用機序として、VEGF受容体flk-1発現亢進ならびにリン酸化の抑制、メサンギウム細胞への直接作用によるMCP-1, RAGE, TGF- β 等の発現制御作用が観察された。一方、2型糖尿病マウス(db/db)モデルにて、VASH-1によるアルブミン尿減少効果、糸球体足細胞発現蛋白異常の改善効果が観察された。培養podocyteにおけるVasohibin-1投与によるネフリン発現回復、形質維持作用を認めた。

本検討により、血管新生negative feedback制御因子VASH-1の外因性投与による糖尿病性腎症治療への応用の可能性が示唆された。

CKD患者血清中のVasohibin-1濃度については、eGFR、尿蛋白等との有意な相関は認めず、尿中Vasohibin-1はeGFRと有意な正の相関を示し、中等度以上の尿細管間質障害群にて低値傾向を示した。また、血漿VASH-1濃度と収縮期血圧が負の相関を示し、血管内皮機能障害を反映しているものと考えられた。腎組織では、糸球体内VASH-1発現と、半月体形成に正の相関を認め、皮質VASH-1発現と間質炎症細胞浸潤に正の相関を認め

た。以上より、Vasohibin-1のCKDバイオマーカーとしての可能性が示唆された。

一方、Vasohibin-1 +/-マウスでは、腎血管等の組織学的異常を認めず、1型糖尿病モデルを惹起すると、野生型対照群に比してアルブミン尿、糸球体肥大、メサンギウム基質増加等の増悪を認めた。

Vasohibin-1のCKD進展における保護的役割が示唆され、今後のCKD治療における応用並びにバイオマーカーとしての可能性が期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計24件)

① Saito D, Maeshima Y他, Amelioration of renal alterations in obese type 2 diabetic mice by Vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis, Am J Physiol-Renal Physiol, 査読有、300巻、2011、F873-886

② Nasu T, Maeshima Y他, Vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis, ameliorates renal alterations in a mouse model of diabetic nephropathy, Diabetes, 査読有、58巻、2009、2365-2375

[学会発表] (計38件)

① Saito D (Maeshima Y), Plasma and urinary levels of Vasohibin-1, a novel endothelium-derived angiogenesis inhibitor, in patients with renal disorders, 2010年度米国腎臓学会議、2010年11月16日、デンバー、米国

② Nasu T (Maeshima Y), Mechanisms involved in the therapeutic efficacies of Vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis, on diabetic nephropathy, 2008年度米国腎臓学会議、2008年11月7日、フィラデルフィア、米国

[図書] (計6件)

① 前島洋平、南山堂、CKDのサイエンス、2010、230

② 前島洋平、東京医学社、CKDのすべて、2009、522

[産業財産権]

○出願状況 (計2件)

名称：バゾヒビン含有治療剤
発明者：前島洋平, 榎野博史, 佐藤靖史
権利者：岡山大学, 塩野義製薬
種類：特許
番号：特願2009-509145号
出願年月日：H21年9月17日
国内外の別：国内

名称：バゾヒビン含有治療剤
発明者：前島洋平, 榎野博史, 佐藤靖史
権利者：岡山大学, 塩野義製薬
種類：特許
番号：PCT/JP2008/055744号
出願年月日：H20年3月26日
国内外の別：外国

○取得状況（計1件）

名称：糖尿病性腎症の治療用医薬組成物
発明者：前島洋平, 一瀬邦弘, 榎野博史
権利者：国立大学法人 岡山大学
種類：特許
番号：第4696237号
取得年月日：H23年3月11日
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前島 洋平 (MAESHIMA YOHEI)
岡山大学・岡山大学病院・講師
研究者番号：10343287

(3) 連携研究者

佐藤 靖史 (SATO YASUFUMI)
東北大学・加齢医学研究所腫瘍循環分野・
教授
研究者番号：50178779