

機関番号：15201

研究種目：基礎研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590974

研究課題名（和文）：尿毒素物質による慢性腎臓病の進展機序の解明と治療への応用

研究課題名（英文）：To clarify the mechanism of chronic kidney disease progression by uremic toxins and its application for the treatment

研究代表者

矢野 彰三 (YANO SHOZO)

島根大学・医学部・講師

研究者番号：80403450

研究成果の概要（和文）：

血管内皮細胞において、尿毒素物質のひとつであるフェニル酢酸は濃度依存的にreactive oxygen species (ROS)およびTNF α の産生を促進し、ROS阻害剤であるTEMPOLはTNF α の産生を阻害した。一方、血管平滑筋において、終末糖化産物(AGE)はNADPHオキシダーゼの活性化を惹起し、これにより産生されるROSが平滑筋細胞の骨芽細胞への形質転換と石灰化に重要な役割を果たしているものと考えられた。

研究成果の概要（英文）：

In vascular endothelial cells, one of uremic toxins, phenyl acetic acid stimulates reactive oxygen species (ROS) production and TNF α in a dose-dependent manner, and ROS inhibitor TEMPOL suppressed TNF α secretion. In vascular smooth muscle cells (VSMC), advanced glycation end-products (AGEs) stimulate NADPH oxidase activity followed by ROS generation, which may play important roles in an osteoblastic trans-differentiation from VSMC and vascular calcification.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2008年度 | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |
| 2009年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 2010年度 | 500,000 | 150,000 | 650,000 |
| 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：尿毒素, 終末糖化産物, 血管平滑筋細胞, 血管石灰化, 血管内皮細胞

1. 研究開始当初の背景：腎不全では血管の内皮・平滑筋の機能低下と動脈硬化・中膜の石灰化などの器質的変化が進行し、心血管イベントの発症や生命予後の悪化に関与する。血管平滑筋細胞は細胞外液の高カルシウ

ム・高リンの環境下では、血管平滑筋細胞としての性質を失い、骨芽細胞様の形質を獲得する。一方、腎不全で蓄積する尿毒素物質が血管平滑筋や内皮細胞にどのような影響を及ぼすのか明らかではない。

2. 研究の目的:

(1) 尿毒素物質の血管平滑筋細胞、内皮細胞およびメサングウム細胞への影響を明らかにし、慢性腎臓病および心血管疾患の進展機序を解明すること。

(2) 尿毒素物質の中でどのような物質が生体に大きな影響を与えるかについて明らかにすること。

3. 研究の方法

培養細胞を用いた in vitro の実験系で尿毒素物質であるフェニル酢酸(PAA)および終末糖化産物(AGEs)による酸化ストレスおよび血管石灰化促進作用について検討した。

4. 研究成果

(1) ヒト血管内皮細胞において、PAA は濃度依存的に ROS および TNF α の産生を促進し、ROS 阻害剤である TEMPOL は TNF α の産生を阻害した。

(2) ヒト血管内皮細胞において、AGE3 は濃度依存的に ROS および TNF α の産生を促進し、NF κ B 阻害剤により ROS 産生は阻害された。以上から、血管内皮では尿毒素物質や AGEs により ROS 産生と TNF α が相乗的に産生され、動脈硬化の進展に関与している可能性が示唆された。

(3) 血管平滑筋において、AGE3 は 48 時間以内に Nox1, Nox4, および phox22 の mRNA 産生を誘導し、過酸化水素の産生、RUNX2, osteopontin, osteocalcin の産生、さらに Ca 沈着が引き続いて生じた。

(4) 血管平滑筋において、Nox4, および phox22 の産生を siRNA によって阻害すると AGE 誘導性の Ca 沈着が有意に抑制された。以上から AGE は RAGE 下流で NADPH オキシダーゼの活性化を惹起し、これにより産生される ROS が平滑筋細胞の骨芽細胞への形質転換と石灰化に重要な役割を果たしているものと考えられた。

(5) AGEs を含めた尿毒素物質は酸化ストレスと炎症性サイトカインの産生を相乗的に亢進させるものと思われる。また、これらを介した血管内皮細胞と平滑筋細胞との相互関係についても、今後明らかにしてゆく必要があると考えられる。さらに、AGE-RAGE 系や ROS 過剰産生に関与する分子群を治療標的とした具体的な戦略についても引き続き研究・開発してゆかねばならない。

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 13 件)

- ① Morita M, Yano S, Yamaguchi T, Yamauchi M, Sugimoto T: Phenylacetic acid stimulates reactive oxygen species generation and tumor necrosis factor- α secretion in vascular endothelial cells. Ther Apheresis Dial. 15(2): 147-150, 2011, 査読有
- ② Smajilovic S, Yano S, Jabbari R, Tfelt-Hansen J: The calcium-sensing receptor and calcimimetics in blood pressure modulation. Br J Pharmacol. 2011 in press, 査読有
- ③ Kanazawa I, Yano S, Notsu Y, Yamaguchi T, Nabika T, Sugimoto T: Asymmetric dimethylarginine as a risk factor for cardiovascular disease in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. Clin Endocrinol (Oxf). 74(4):467-72, 2011, 査読有
- ④ 矢野彰三: 腎移植レシピエントの骨脆弱性を誘発する要因. 腎と骨代謝 Vol.24(1): 15-22, 2011, 査読無
- ⑤ Kanazawa I, Yano S, Yamaguchi T, Notsu Y, Nabika T, Sugimoto T: Relationships between dimethylarginine and the presence of vertebral fractures in type 2 diabetes mellitus. Clin Endocrinol (Oxf). 73(4): 463-8, 2010, 査読有
- ⑥ Yano S, Brown EM, Takase H, Wada A, Suzuki K, Kobayashi A, Sugimoto T: Calcium-corrected Intact PTH: A Clinically Useful Parameter for Quantifying Parathyroid Function in Patients Undergoing Hemodialysis. Nephron Clin Pract. 115:51-58, 2010, 査読有

- ⑦ Yano S, Suzuki K, Sumi M, Tokumoto A, Shigeno K, Himeno Y, Sugimoto T: Bone metabolism after cinacalcet administration in patients with secondary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Metab.* 28:49-54, 2010, 査読有
- ⑧ 矢野彰三, 杉本利嗣: 続発性骨粗鬆症における骨折リスク. *CLINICAL CALCIUM* Vol. 19(9): 771-776, 2010, 査読無
- ⑨ 矢野彰三: 慢性腎臓病と骨折. *The BONE* Vol. 24(4): 347-352, 2010, 査読無
- ⑩ Takase H, Yano S, Yamaguchi T, Kanazawa I, Hayashi K, Yamamoto M, Yamauchi M, Sugimoto T: Parathyroid Hormone Upregulates BMP-2 mRNA Expression Through Mevalonate Kinase and Rho Kinase Inhibition in Osteoblastic MC3T3-E1 Cells. *Horm Metab Res.* 41:861-865, 2009, 査読有
- ⑪ 矢野彰三, 杉本利嗣: 私の処方 維持血液透析中の二次性副甲状腺機能亢進症に対する内科的治療. *Modern Physician* 29(4): 534-535, 2009, 査読無
- ⑫ 矢野彰三, 杉本利嗣: 生体におけるリンの分布と生理的意義: 存在様式, 分布, 生理機能. *CLINICAL CALCIUM* Vol. 19(6): 771-776, 2009, 査読無
- ⑬ 矢野彰三: 脊椎圧迫骨折と食道裂孔ヘルニア, *Gastro Report 整形外科領域における消化管疾患*. *Salvus* Vol. 3 (4): 2009, 査読無

[学会発表] (計 12件)

- ① Yano S, Iwasaki Y, Tokumoto A, Yamato H, Yamaguchi T, Sugimoto T: Assessment of bone tissue composition in patients undergoing dialysis therapy using Raman spectrometry. The 32th American

Society for Bone and Mineral Research, Toronto, Canada, October 15-19, 2010.

- ② Yano S, Nabika T, Sugimoto T: Weight gain is associated with a decrease in eGFR in middle-aged Japanese; a 5-year follow-up study. 14th International Society of Nephrology, Kyoto, April 15-18, 2010.
- ③ Yano S, Nabika T, Sugimoto T: Weight gain is associated with a decrease in eGFR in middle-aged dwelling people. 14th International Congress of Endocrinology, Kyoto, March 26-30, 2010.
- ④ Takase H, Yano S, Yamaguchi T, Kanazawa I, Hayashi K, Yamamoto M, Yamauchi M, Sugimoto T: Parathyroid Hormone Upregulates BMP-2 mRNA Expression Through Mevalonate Kinase and Rho Kinase Inhibition in Osteoblastic MC3T3-E1 Cells. The 31th American Society for Bone and Mineral Research, Denver, USA, September 11-15, 2009.
- ⑤ Yano S, Yamaguchi T, Suzuki K, Sumi M, Himeno Y, Sugimoto T: Acute change in serum ionized calcium directly affects bone formation independent of PTH action during hemodialysis. The 30th American Society for Bone and Mineral Research, Montreal, Canada, September 12-16, 2008.
- ⑥ 矢野彰三, 角 昌晃, 名和田清子, 景山明美, 姫野安敏, 杉本利嗣: 透析女性に対するラロキシフェンの効果～3年間の縦断検討～. 第55回日本透析医学会学術集会・総会. 神戸, 2010年6月18-20日.
- ⑦ 藤原良江, 安井ひとみ, 板倉文子, 石飛

真寿子、門脇千春、岡田理江、山根晴香、
矢野彰三、姫野安敏：当院透析患者にお
ける神経障害の実態. 第 55 回日本透析医
学会学術集会・総会. 神戸, 2010 年 6 月
18-20 日.

⑧ 矢野彰三, 並河 徹, 杉本利嗣：一般住
民における腎機能低下に対する肥満の関
与. 第 52 回日本腎臓学会学術総会. 横浜,
2009 年 6 月 16-18 日.

⑨ 矢野彰三, 鈴木恵子, 角 昌晃, 滋野和
志, 姫野安敏, 徳本明秀, 公受伸之, 杉
本利嗣：シナカルセトの血清 Ca 低下作
用：骨吸収・骨形成のアンカップリング
の関与. 第 54 回日本透析医学会学術集
会・総会. 横浜, 2009 年 6 月 5-7 日.

⑩ 矢野彰三, 山口 徹, 高瀬裕史, 金沢一
平, 林 公美, 山内美香, 山本昌弘, 杉
本利嗣：副甲状腺ホルモンは骨芽細胞に
おいてメバロン酸—Rho キナーゼ経路を
介して BMP-2mRNA 発現を亢進する. 第 27
回日本骨代謝学会学術総会. 大阪, 2009
年 7 月 22-25 日.

⑪ 矢野彰三, 山口徹, 金沢一平, 小川典子,
林公美, 山内美香, 杉本利嗣：尿毒症物
質フェニル酢酸は腎不全による低回転骨
の原因物質である. 第 51 回日本腎臓学会
学術総会. 福岡, 2008 年 5 月 30 日—6 月
1 日.

⑫ 高瀬裕史, 矢野彰三, 鈴木恵子, 山口徹,
杉本利嗣：透析患者における副甲状腺機
能定量化の試み：島根県の現状, 第 53 回
日本透析医学会学術集会・総会. 神戸,
2008 年 6 月 20-22 日.

[図書] (計 3 件)

① 矢野彰三, 杉本利嗣：副甲状腺腫瘍の疫
学. 日本臨床 69 増刊号 2: 407-410,
2011

② 矢野彰三：骨代謝とその調節機構.

CKD-MBDハンドブック, 編著:深川雅史,
日本メディカルセンター 東京:
39-46, 2009

③ 矢野彰三, 杉本利嗣:糖尿病と骨病変.
CKD-MBDハンドブック, 編著:深川雅史,
日本メディカルセンター 東京:
208-212, 2009

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢野 彰三 (YANO SHOZO)
島根大学・医学部・講師
研究者番号：80403450

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

杉本 利嗣 (SUGIMOTO TOSHITSUGU)
島根大学・医学部・教授
研究者番号：00226458