

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591283

研究課題名(和文) 腎糸球体の再生過程における糸球体内皮細胞の役割と
再生促進因子の解明研究課題名(英文) The role of glomerular endothelial cell and accelerated
regenerative factors in renal injur

研究代表者

川崎 幸彦 (KAWASAKI YUKIHIKO)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00305369

研究成果の概要(和文)：

糸球体内皮細胞障害からの再生機序を明らかにするため、重症度の異なる HUS 類似病変マウスを作製し、糸球体・尿細管障害とその回復過程における VEGF と Angiopoietin-1 の発現度とその役割に関して検討した。C57BL/6 マウス(7-8 週齢)を LPS300 μ g/kg+Stx2 225ng/kg 投与群(致死群)、LPS100 μ g/kg+Stx 100ng/kg 投与群(軽症群)、生食投与群(対象群)に分け、経時的な腎組織変化と VEGF と Angiopoietin-1 発現の有無を検討した。致死群マウスでは腎障害に対する回復機序はみられなかったが、軽症群マウスはメサンギオリーシスや内皮細胞障害後にメサンギウム細胞や内皮細胞の増殖が出現した。この時期にあわせて内皮細胞に VEGF と Angiopoietin-1 の発現が強くみられた。これらの結果より VEGF と Angiopoietin-1 が糸球体内皮細胞障害からの回復過程に重要な役割を果たしていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：

We examined the process of the renal recovery in mice with HUS and the relationship between its renal recovery and VEGF, Angiopoietin-1. C57BL/6 mice were divided into three groups. Group 1 was consisted of mice received an inyraperitoneal injection of dose of LPS at 300 μ g/kg and 225 ng/kg Stx2, Group 2 was consisted of mice received an inyraperitoneal injection of a low dose of LPS at 100 μ g/kg and 100 ng/kg Stx2. Mice in the control group were inoculated with saline. The kidneys were extirpated from 5 mice of each group sacrificed with time after administration for histological evaluation. Serum Crs in Group 1 were higher than those in Group 2 and all mice in Group 1 were died at 72-80 hours and all mice in Group 2 were alive. The fragmented erythrocytes were found in both groups. Endothelial injury and mesangiolytic scores at 24 hours in Group 1 were higher than those in Group 2. In addition, mesangial proliferation and mesangial matrix scores, CD31 positive expression at 72 hours in Group 2 were higher than those in Group 1. Glomerular VEGF and Angiopoietin-1 expressing in Group 2 gradually increased and were peak from 72 hours to 7 days. HUS mice induced by low dose of LPS and Stx2 were useful model for the recovery process of acute renal injury and VEGF and Angiopoietin-1 play important roles of its recovery process.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：HUS, VEGF, Angiopoietin-1, 糸球体内皮細胞障害, 再生機序

1. 研究開始当初の背景

Vascular endothelial growth factor (VEGF)は、血管新生において最も重要な働きを有するシグナル分子である。腎においても組織障害時の修復因子と考えられており、その受容体を介して 内皮細胞障害時の血管新生およびメサンギウム細胞基質の増生抑制に働くことが報告されている。また、腫瘍や網膜症など VEGF が過剰に産生される組織では、炎症を惹起し、透過性の亢進した未熟な血管を形成することが報告されている。

一方、Angiopoietin-1も同様に血管新生増殖因子の一つであり、受容体である Tie2 を介して、安定な血管構造を維持する働きをもち、未熟な腫瘍血管を壁細胞で覆われた安定な血管に変換することが知られている。さらに、肝細胞増殖因子 (Hepatocyte Growth Factor, HGF)は、多くの慢性臓器疾患に対して実質再生を促し線維化への進展を予防する因子とされており、腎組織においても腎組織障害時の修復因子の一つと考えられており、HGF 受容体 (c-Met) と結合することで糸球体内皮細胞や上皮細胞の抗アポトーシス作用や内皮細胞障害時の血管新生およびメサンギウム細胞基質の増生抑制に働くことが報告されている。

しかし、VEGF や Angiopoietin-1、HGF の血管再生因子に関して糸球体内皮細胞に作用する詳細な機序に関しては未だ不明のままであり、ヒトの慢性糸球体腎炎におけるその発現度や発現時期に関しては詳細な報告はない。

2. 研究の目的

糸球体の障害や修復過程、特に血管新生における内皮細胞の役割を検索することを目的として、内皮細胞障害モデルである溶血性尿毒症性症候群 (HUS) のマウスモデルを使用し、各々の腎組織における Vascular endothelial growth factor (VEGF) と Angiopoietin-1 の経時的発現性と糸球体障害とその再生過程との関連性を検討した。さらに、ヒトの各種糸球体腎炎の急性期や慢性期における検体で HGF や c-Met およびアポトーシスの発現の有無や程度を検討し、ヒトの糸球体障害度と回復過程について検索した。

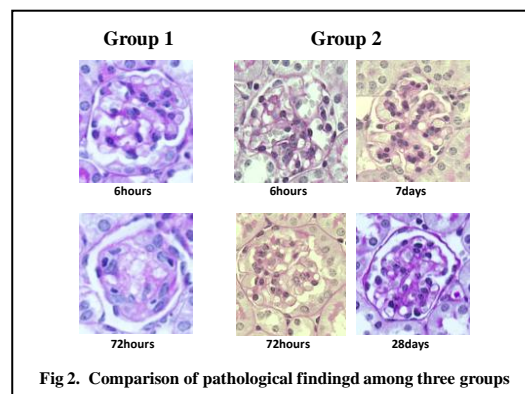
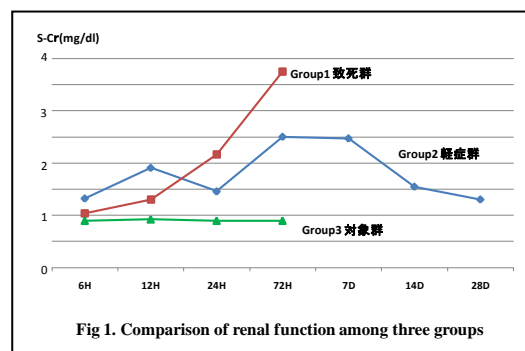
3. 研究の方法

C57BL/6 マウス (7-8 週齢) に LPS と志賀毒素 (Stx) を投与し HUS 動物モデルを作成した。これらモデルを重症度別に LPS

300 μ g/kg+Stx2 225ng/kg 投与群 (致死群)、LPS300 μ g/kg+Stx 50ng/kg 投与群 (軽症群)、生食投与群 (対象群) に分け、経時的に腎臓を採取し (6, 12, 24 時間, 3, 7, 14, 28 日後)、腎組織変化と VEGF および Angiopoietin-1 発現の有無を免疫組織染色や PCR 法を用いて比較検討した。また、ヒトの紫斑病性腎炎における急性期や慢性期の腎組織上で α -smooth muscle actin (α -SMA) や c-Met の発現度に関して検索した。

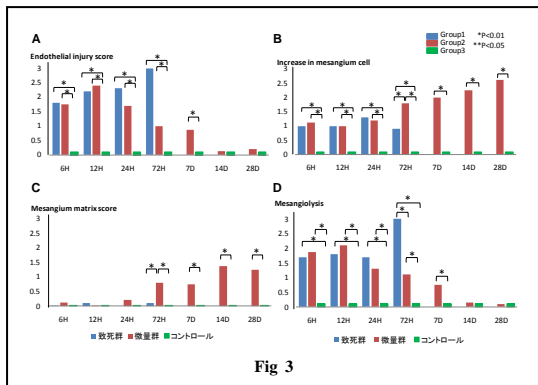
4. 研究成果

(1) 致死群および軽症マウス群ではコントロール群と比較して体重減少と腎機能障害が著明に認められ、6 時間後から両群で破碎赤血球がみられた。致死群マウスでは 72 時間から 80 時間後に死亡したが、軽症マウス群では観察期間中全例生存していた (Fig. 1, 2)。



腎組織所見の検討では、致死群マウスでは腎障害に対する回復機序はみられなかったが、軽症群マウスはメサンギオリーシスや内皮細胞障害後にメサンギウム細胞や内皮細胞

の増殖が出現し、腎障害時の糸球体修復過程が認められた (Fig. 3)。



(2) VEGF は、糸球体障害の早期に主に糸球体上皮細胞で発現が増強した。病初期では、軽症群に比して致死群でより発現度が強く、糸球体内皮障害度とほぼ一致しており、その後、経時的に減弱傾向を示した。軽症群では VEGF の持続的な発現が認められた。

(3) 致死群における Angiotensin-1 発現は、比較的早期から主に糸球体内皮細胞にみられたが、その後、発現は経時的に減弱した。軽症群では、病初期から回復期にかけて Angiotensin-1 発現が次第に増強し、糸球体内皮障害度の修復にほぼ一致して観察された。

(4) RT-PCR 法による検討では、軽症群で 12 時間から VEGF 発現が増強し、その後、Angiotensin-1 発現が緩やかに増強、遷延した。一方、致死群では VEGF は 6 時間から発現するものの Angiotensin-1 発現の増強はなかった。

(5) ヒトの紫斑病性腎炎では急性期での組織障害が高度であるほど α -SMA や c-Met の発現が高度であり、検尿異常が遷延する症例では α -SMA の発現がより強かった。これらの結果より VEGF と Angiotensin-1 が糸球体内皮細胞障害からの回復機序に重要な役割を果たしていることが示唆された。

これらの結果より今回の検討で軽症 HUS モデルマウスは HUS の回復機序を検討する上で有用なモデルマウスであることが明らかになった。急性腎障害の回復過程にはメサンギウム細胞や内皮細胞の増殖と VEGF や Angiotensin-1 などの血管再生因子が重要な役割を果たしていることが示唆された。

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 24 件)

- ① Kawasaki Y, Suyama K, Yugeta E, Katayose M, Suzuki S, Sakuma H, Nemoto K, Tsukagoshi A, Nagasawa K, Hosoya M, The incidence and severity of Henoch-Schoenlein purpura nephritis over a 22-year period in Fukushima Prefecture, Japan, Int. Urol. Nephrol., 42(4), 1023-1029, 2010, 査読有
- ② Kawasaki Y, Mizoribine: a new approach in the treatment of renal disease, Clin. Dev. Immunol., 681482, 2009, 査読有
- ③ Kawasaki Y, Suyama K, Abe Y, Ushijima Y, Sakai N, Takano K, Ito M, Hashimoto K, Hosoya M, Tonsillectomy with methylprednisolone pulse therapy as rescue treatment for steroid-resistant IgA nephropathy in children, Tohoku J. Exp. Med., 218(1), 11-16, 2009, 査読有
- ④ Kawasaki Y, Suyama K, Go H, Imamura T, Ushijima Y, Sakai N, Hashimoto K, Hosoya M, Accumulation of macrophages expressing myeloid-related protein 8 associated with the progression of sclerotic changes in children with IgA nephropathy, Tohoku J. Exp. Med. 218(1), 49-55, 2009, 査読有
- ⑤ Kawasaki Y, Isome M, Takano K, Suyama K, Imaizumi T, Matsuura H, Ishii K, Hashimoto K, Hosoya M, IgA nephropathy in a patient with dominant dystrophic epidermolysis bullusa, Tohoku. J. Exp. Med., 214(4), 297-301, 2008, 査読有
- ⑥ Kawasaki Y, Imaizumi T, Matsuura H, Ohara S, Takano K, Suyama K, Hashimoto K, Nozawa R, Suzuki H, Hosoya M, Renal expression of alpha-smooth muscle actin and c-Met in children with Henoch-Schoenlein purpura nephritis, Pediatr. Nephrol., 23(6), 913-919, 2008, 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- ① 川崎幸彦, 陶山和秀, 今泉智子, 大原信一郎, 高野 恵, 鈴木重雄, 鈴木順造, 細矢光亮, 紫斑病性腎炎に対するミゾリビン併用メチルプレドニゾロン・ウロキナーゼパルス療法の有効性に関する検討, 第 53 回日本腎臓病学会学術集会, 平成 22 年 6 月 17 日, 神戸
- ② 川崎幸彦, 陶山和秀, 今泉智子, 大原信

一郎, 鈴木雄一, 牛嶋裕美子, 石井希代子, 橋本浩一, 細矢光亮, 当科の過去 22 年間における紫斑病性腎炎患児 120 例の発症頻度と重症度の経時的変化, 第 113 回日本小児科学会学術集会, 平成 22 年 4 月 25 日, 盛岡

- ③ 川崎幸彦, 陶山和秀, 今泉智子, 大原信一郎, 高野 恵, 酒井信子, 細矢光亮, 当科の過去 20 年間における紫斑病性腎炎患児 116 例の疫学的臨床的検討—紫斑病性腎炎は軽症化傾向にあるか否か, 第 52 回日本腎臓病学会学術集会, 平成 21 年 6 月 3 日, 横浜
- ④ 川崎幸彦, 陶山和秀, 高野 恵, 今泉智子, 大原信一郎, 細矢光亮, IgA 腎症の腎炎増悪・硬化進展における活性型マクロファージの役割, 第 51 回日本腎臓病学会学術集会, 平成 20 年 5 月 31 日, 福岡

[図書] (計 4 件)

- ① 川崎幸彦, 中山書店, 小児科臨床ピクシス 25, 2011, 4 ページ.
- ② 川崎幸彦, 細矢光亮, 東京医学社, 小児内科第 42 巻増刊号「小児の薬の使い方」, 2010, 2 ページ.
- ③ 川崎幸彦, 細矢光亮, 中山書店, 小児科臨床ピクシス, 2009, 6 ページ.
- ④ 川崎幸彦, 東京医学社, 小児内科第 40 巻増刊号「小児疾患診療のための病態生理」, 2008, 4 ページ.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川崎 幸彦 (KAWASAKI YUKIHIKO)
福島県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 00305369

(2) 研究分担者

細矢 光亮 (HOSOYA MITSUAKI)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号: 80192318

橋本 浩一 (HASHIMOTO KOUICHI)
福島県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 50322342

陶山 和秀 (SUYAMA KAZUHIDE)
福島県立医科大学・医学部・助教
研究者番号: 90423798

(3) 連携研究者

なし