

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16940

研究課題名（和文）アンチセンスオリゴによりVEGFスプライシングを制御する小児腎疾患治療の検討

研究課題名（英文）Antisense oligonucleotides regulate VEGF splicing in pediatric kidney disease

研究代表者

西岡 隆文（Nishioka, Takafumi）

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：70815464

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,500,000円

研究成果の概要（和文）：IgA腎症と微小変化群でVEGF-Aスプライシングアイソフォームの解析を行った。IgA腎症12症例中、7症例が121,165,189を、5症例が121のみを発現した。微小変化群では13症例中、12症例が121,165,189を、1症例が121のみを発現した。real time PCRで各群のVEGF-A121,165,189遺伝子の発現量を測定し平均値を算出した所、微小変化群に比べIgA腎症がすべてにおいて上回っていた。

各症例においてVEGF-Aの発現量と蛋白尿、組織学的重症度、ステロイド治療などの相関性について臨床的な観点から検討を行ったがどれについても明らかな関連は認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児慢性糸球体腎炎は治療法の進歩によって予後は改善しているものの、今日でも末期腎不全に至る例が稀ではなく、新規治療法の開発が切望されている。VEGFの慢性腎臓病への関与が指摘され治療標的として注目されているが、小児腎疾患患者におけるVEGFの分子病態は十分には解明されておらず、そのことが新規VEGF治療法開発の大きな妨げになっている。本研究では、小児慢性糸球体腎炎患者と微小変化群の腎組織におけるVEGF-Aのスプライシングアイソフォームの発現の違いについて比較検討を行う。

本研究の成果により小児慢性糸球体腎炎における分子病態が明らかになるとともに、新規治療開発につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：VEGF-A splicing isoforms were analyzed in IgA nephropathy and minimal change group. Of 12 cases of IgA nephropathy, 7 expressed 121, 165, 189, and 5 expressed only 121. Of 13 cases in the minimal change group, 12 expressed 121, 165, 189, and 1 expressed only 121. When the expression levels of VEGF-A121, 165, 189 genes in each group were measured by real-time PCR and the average values were calculated, the IgA nephropathy group had higher levels in all cases than the minimal change group.

Correlations between the expression levels of VEGF-A and proteinuria, histological severity, steroid treatment, etc. were examined from a clinical perspective in each case, but no clear correlation was found in any of them.

研究分野：腎臓内科

キーワード：VEGF-A スプライシングアイソフォーム 慢性糸球体腎炎 IgA腎症 微小変化群

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

血管内皮増殖因子(VEGF)はサイトカインの一種であり、様々なスプライシングアイソフォームが知られている。腎組織において VEGF-A121、165、189 などの発現が知られており、VEGF の慢性腎臓病の病態への関与が示唆されている。近年、VEGF-A のスプライシングアイソフォームの一つである VEGF-A165b の存在が明らかになり、腎保護作用を有し腎機能を改善する可能性が報告された。これらのことは、VEGF-A スプライシングアイソフォームを制御することが新たな治療法となる可能性を示唆しているが、小児腎臓病患者における VEGF の分子病態は十分には解明されていない。

### 2. 研究の目的

VEGF-A スプライシングアイソフォームを制御する治療を検討する上で、小児腎臓病における VEGF-A スプライシングアイソフォーム発現様式を解明することが不可欠である。本研究では、当院で腎生検を施行された小児慢性糸球体腎炎症例の腎組織における VEGF-A スプライシングアイソフォーム発現様式を解析し、各病態におけるスプライシングアイソフォームの関与を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

当院で腎生検を施行された IgA 腎症 12 症例(生検時 3~15 歳、男児 6 例、女児 6 例)と微小変化群 13 症例(生検時 3~17 歳、男児 9 例、女児 4 例)の腎組織より RNA を抽出し、RT-PCR 法により VEGF-A スプライシングアイソフォームの解析を行い、発現様式の差を比較検討した。さらに real time PCR 法により各アイソフォームを定量し、臨床病態との関連を検討することにより小児慢性腎臓における VEGF-A スプライシングアイソフォームの病態への関与を明らかにする。

### 4. 研究成果

IgA 腎症 12 症例と微小変化群 13 症例の腎組織より RNA を抽出し、RT-PCR 法により VEGF-A スプライシングアイソフォームの解析を行った。IgA 腎症 12 症例のうち 7 症例に VEGF-A 121、165、189 の発現を認めた。5 症例は VEGF-A 121 のみの発現を認めた。微小変化群 13 症例のうち 12 症例に VEGF-A 121、165、189 の発現を認め、1 症例は VEGF-A 121 のみの発現を認めた。解析を行った症例のうち VEGF-A 165b の発現を認めたものはなかった。

過去の報告において VEGF-A と糸球体内皮細胞の障害、蛋白尿、ステロイド治療による影響が報告されており、臨床的な観点から蛋白尿との関連性、IgA 腎症症例において臨床的重症度分類・組織学的重症度分類との関連性、ネフローゼ症候群の症例においてステロイド感受性・ステロイド抵抗性との関連性、ステロイドで治療を行った症例における関連性、免疫抑制剤で治療を行った症例における関連性、IgA 腎症症例において血清 BUN・UA・IgA・IgG・IgM との関連性、IgA 腎症症例において腎炎発症から腎生検までの期間との関連性を調査したが臨床的な関連は明らかではなかった。過去の報告では慢性腎臓病患者において腎臓での VEGF-A の発現量減少、さらには過度な糸球体の VEGF-A の発現は糸球体障害をまねくことも示されており、real time PCR 法により各アイソフォームの定量を行うことで臨床病態との関連を再度検討した。real time PCR 法で IgA 腎症と微小変化群それぞれの群において VEGF-A121、165、189 遺伝子の発現量を測定し平均値(Average Ct = 測定遺伝子 Average Ct value - 標準遺伝子 Average Ct value)を算出した。IgA 腎症群では Average Ct は 121:3.80、165:3.41、189:3.35 であった。微小変化群で

は Average Ct は 121:2.97、165:2.73、189:2.50 であった。IgA 腎症群が微小変化群と比べすべてにおいて Average Ct は上回っていた。蛋白尿との関連性、IgA 腎症症例において臨床的重症度分類・組織学的重症度分類との関連性、ネフローゼ症候群の症例においてステロイド感受性・ステロイド抵抗性との関連性、ステロイドで治療を行った症例における関連性、免疫抑制剤で治療を行った症例における関連性、IgA 腎症症例において血清 BUN・UA・IgA・IgG・IgM との関連性、IgA 腎症症例において腎炎発症から腎生検までの期間との関連性について同様に調査したが臨床的な関連は明らかではなかった。

#### <引用文献>

Bieke F. Schrijvers、Allan Flyvbjerg、The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology、Kidney International、Vol,65、2004、2003-2017

Megan Stevens、Sebastian Oltean、Modulation of VEGF-A Alternative Splicing as a Novel Treatment in Chronic Kidney Disease、Genes、9,98、2018、1-10

Yohei Maeshima、Hirofumi Makino、Angiogenesis and chronic kidney disease、Fibrogenesis & Tissue Repair、3:13、2010、1-17

佐藤 靖史、安部 まゆみ、血管の新生と再生における VEGF の役割、炎症・再生、22 巻、2002、169-177

Megan Stevens、Christopher R. Neal、VEGF-A165b protects against proteinuria in a mouse model with progressive depletion of all endogenous VEGF-A splice isoforms from the kidney、J physiol、1;595(19)、2017、6281-6298

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究協力者	竹島 泰弘  (Takeshima Yasuhiro)		
研究協力者	下村 英毅  (Shimomura Hideki)		
研究協力者	李 知子  (Lee Tomoko)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関