

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591570

研究課題名(和文)ANGPTL4の系球体内皮細胞障害及び小児進行性腎炎における役割解明

研究課題名(英文)The role of angiotensin-like protein 4 (ANGPTL4) in the glomerular endothelial cell injury and progressive glomerular injury

研究代表者

香美 祥二(KAGAMI, Shoji)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：00224337

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：今回は我々は、腎炎進展時に誘導される多くの遺伝子の中から系球体内皮細胞(GEC)障害に関わる分子をDNAアレイ解析より検索しアンジオポエチン様因子4 (ANGPTL4)を同定した。進行性腎炎モデルにおける検討ではAng IIが内皮細胞ANGPTL4発現を制御している可能性が示唆された。培養ヒトGECを用いた検討では、Ang IIはGECのANGPTL4とp63を誘導し、ANGPTL4の発現誘導にp63が関与していることが示唆された。本研究の成果は、腎炎進展時の内皮細胞-ANGPTL4並びにp63発現を制御する手段を開発することが難治性腎炎の新規治療法開発の端緒となることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：This study is performed to find the molecular targets in treatment for preventing the progression of kidney diseases. We identified the angiotensin-like protein 4 (ANGPTL4) involved in glomerular endothelial cell (GEC) injury among many induced genes during the course of progressive kidney injury. In the rat models of chronic glomerulonephritis, we found the good correlation among the expression of glomerular renin-angiotensin (ang) system (RAS) components, the expression of GEC- ANGPTL4 and the level of glomerular injury. Inhibition of RAS with inhibitors decrease the levels of those molecules as well as glomerular injury, suggesting that GEC- ANGPTL4 may be regulated under control of glomerular RAS expression. Additionally, we also found that p63 is involved in ang II-induced GEC- ANGPTL4 expression. Therefore, we conclude that ANGPTL4 as well as p63 protein in GEC may be novel molecular targets for regulating the progression of kidney diseases.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：アンジオテンシンII 系球体内皮細胞 アンジオテンシノーゲン ANGPTL4 p63

1. 研究開始当初の背景

小児の難治性腎炎は、慢性的な糸球体内皮細胞(GEC)障害の結果、血液濾過障壁の消失を特徴とする糸球体硬化へと進展する。腎炎進行に関わる最も確立された液性因子は、レニン・アンジオテンシン系(RAS)活性化により生ずるアンジオテンシン II (Ang II)であるが、Ang II が硬化の原因となる慢性 GEC 障害(毛細血管障害)にどのように関与しているのか、未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

持続的な GEC 障害に関わる候補分子として抽出したアンジオポエチン様因子 4 (ANGPTL4)の腎炎進行における役割を明らかにするとともに、GEC における ANGPTL4 作用を制御するシグナル経路を解明し、治療のターゲット分子を同定することである。

3. 研究の方法

(1)腎炎進展時に誘導される多くの遺伝子の中から糸球体内皮細胞(GEC)障害に関わる分子を DNA アレイ解析より網羅的に検索した。
(2)小児進行性腎疾患において GEC における ANGPTL4 発現変化を検討し、ANGPTL4 が小児の GEC 障害と腎炎進展に関与しているか否かを検討する。
(3)ラット実験腎炎モデルにて、Ang II 作用阻害が ANGPTL4 発現変化に影響するか否かを検討し、ANGPTL4 が薬物療法のターゲットとなりうるかを検討する。また、バイオマーカーとして尿中 ANGPTL4 測定法の確立と診断応用を検討する。
(4)培養ヒト GEC を用いて、Ang II, ANGPTL4 の GEC シグナル伝達経路を解析し、GEC 障害を通じて糸球体硬化へ至るシグナル分子伝達機構を明らかにする。

4. 研究成果

進行性腎炎モデルでは糸球体 RAS 成分(アンジオテンシノーゲン、Ang II)が亢進しており、内皮細胞 ANGPTL4 発現も増加していた。Ang II 作用を阻害する拮抗薬(ARB)で腎炎を治療すると、尿所見や腎炎組織像の改善だけでなく ANGPTL4 の遺伝子および蛋白発現レベルで改善が得られた。ANGPTL4 が血管新生や透過性に関わっていることから、培養ヒト GEC (Bristol 大学 Peter Mathieson 教授より供与)を用いて RAS と ANGPTL4 の関連性と ANGPTL4 発現誘導するシグナル経路を検討している(特に p63 を含む経路を探索している)。本研究の成果は腎炎進行の基盤となる GEC 障害での ANGPTL4 の役割を解明する上で重要であり、GEC 障害阻止に基づく腎炎の新規治療法の開発の端緒となる可能性がある。

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 11 件)

Urushihara M, Seki Y, Tayama T, Nagai T, Kinoshita Y, Jamba A, Kondo S, Kagami S. Glomerular angiotensin-converting enzyme 2 in pediatric IgA nephropathy. Am J Nephrol. 査読無.2013,38,355-367. DOI: 10.1159/000355618.

Sugiyama H, Yokoyama H, Sato H, Saito T, Kohda Y, Nishi S, Tsuruya K, Kiyomoto H, Iida H, Sasaki T, Higuchi M, Hattori M, Oka K, Kagami S, Kawamura T, Takeda T, Hataya H, Fukasawa Y, Fukatsu A, Morozumi K, Yoshikawa N, Shimizu A, Kitamura H, Yuzawa Y, Matsuo S, Kiyohara Y, Joh K, Nagata M, Taguchi T, Makino H; Committee for Standardization of Renal Pathological Diagnosis; Committee for Kidney Disease Registry; Japanese Society of Nephrology. Japan Renal Biopsy Registry and Japan Kidney Disease Registry: Committee Report for 2009 and 2010. Clin Exp Nephrol. 査読無, 2013 17:155-173.

DOI: 10.1007/s10157-012-0746-8.

Kishi N, Suga K, Matsuura S, Kinoshita Y, Urushihara M, Kondo S, Kitano E, Hatanaka M, Kitamura H, Sato T, Maeda A, Kagami S. A case of infantile systemic lupus erythematosus with severe lupus nephritis and EBV infection. CEN Case Rep, 査読無, 2013, 2, 190-193.

Kagami S. Involvement of glomerular renin-angiotensin system(RAS) activation in the development and progression of glomerular injury. Clin Exp Nephrol, 査読有, 16:214-220, 2012. DOI: 10.1007/s10157-011-0568-0

Urushihara M, Kinoshita Y, Kondo S, Kagami S: Involvement of the intrarenal renin-angiotensin system in experimental models of glomerulonephritis. J Biomed Biotechnol 査読有,2012:601786, 2012 DOI:10.1155/2012/601786

Suga K, Kondo S, Matsuura S, Kinoshita Y, Urushihara M, Kagami S: Glomerular expression of hydrogen peroxide-inducible clone-5 in human and rat progressive mesangial proliferative glomerulonephritis. Nephron Exp Nephrol, 査読有, 120:e59-68, 2012

DOI:10.1159/000335780

Urushihara M, Kagami S: Urinary Angiotensinogen as a Biomarker of Nephropathy in Childhood. *Int J Nephrol*. 査読有, 2011:206835, 2011
DOI:10.4064/2011/206835
Matsuura S, Kondo S, Suga K, Kinoshita Y, Urushihara M, Kagami S: Expression and localization of focal adhesion proteins in the developing rat kidney. *J Histochem Cytochem*. 査読有, 59:864-874, 2011
DOI:10.1369/0022155411413929
Kinoshita Y, Kondo S, Urushihara M, Suga K, Matsuura S, Takamatsu M, Shimizu M, Nishiyama A, Kawachi H, Kagami S: Angiotensin II type 1 receptor blockade suppress glomerular renin-angiotensin system activation, oxidative stress, and progressive glomerular injury in rat anti-GBM glomerulonephritis. *Transl Res*. 査読有, 158:235-248, 2011
DOI:10.1016/j.trsl.2011.05.003
Shimizu M, Sekiguchi T, Kishi N, Goji A, Takahashi T, Kozan H, Sakaguchi Z, Kinoshita Y, Matsuura S, Suga K, Urushihara M, Kondo S, Kagami S, Ohara K: A case of a 6-year-old girl with ANCA-negative pauci-immune crescentic glomerulonephritis. *Clin Exp Nephrol*. 査読有, 21:2380-2390, 2011
DOI:10.1007/s10157-011-0423-3
松浦里, 近藤秀治, 須賀健一, 木下ゆき子, 漆原真樹, 香美祥二. 尿管芽分岐とネフロン形成におけるNADPHオキシダーゼの役割. *発達腎研究会誌* 査読有 19: 11-13, 2011.

[学会発表](計 31件)

松浦 里, 永井 隆, 木下ゆき子, 須賀健一, 漆原真樹, 近藤秀治, 香美祥二: レニンアンジオテンシン系阻害薬を投与しているアルポート症候群の3例
第30回中国四国小児腎臓病学会. 2013年11月17日, 徳島シビックセンター, 徳島市.
今田久美子, 永井 隆, 漆原真樹, 近藤秀治, 高橋正幸, 庄野実希, 藤野修司, 山上貴司, 松岡 優, 香美祥二: 精神運動発達遅滞と右多趾症を合併した常染色体劣性多発性嚢胞腎(ARPKD)と考えられた1例
第30回中国四国小児腎臓病学会. 2013年11月17日, 徳島シビックセンター, 徳島市.
Jamba A, Kondo S, Urushihara M, Nagai T, Tamaki T, Kagami S: Contribution of hydrogen peroxide-inducible clone-5 to the regulation of mesangial cell

proliferation in mesangioproliferative glomerulonephritis
The annual meeting of American society of nephrology Kidney Week 2013, 2013年11月5-10日, Georgia World Congress Center, Atlanta, GA, USA.
永井隆, 富本亜由美, 木下ゆき子, 漆原真樹, 近藤秀治, 宮崎雅仁, 香美祥二: Septo-optic dysplasiaの末期腎不全に対して維持血液透析を導入した一例
第35回日本小児腎不全学会学術集会. 2013年10月24日-25日, 磐梯熱海温泉ホテル華の湯, 福島県.
永井隆, 尾崎夏子, 木下ゆき子, 松浦里, 漆原真樹, 近藤秀治, 香美祥二: 重症心身障害児(者)に透析を導入した二症例. 第43回日本腎臓学会学術集会西部大会. 2013年10月11日-12日, 松山全日空ホテル, 愛媛県松山市
Kagami S: Urinary angiotensinogen as a biomarker of chronic glomerulonephritis in childhood. The 1st International Conference on Urinomics. 2013 Caparica, 2013年9月10日, 2013 Hotel Costa de Caparica, Portugal.
Tayama T, Urushihara M, Seki Y, Kinoshita Y, Nagai T, Jamba A, Kondo S, Kagami S: Effect of direct renin inhibitor on renal inflammation and (pro)renin receptor in crescentic glomerulonephritis. The Sixteen Congress of the International Pediatric Nephrology Association. 2013年8月30日-9月3日, Shanghai International Convention Center, Shanghai, China.
Seki Y, Urushihara M, Tayama T, Nagai T, Kinoshita Y, Jamba A, Kondo S, Kagami S: Glomerular ACE2 expression is enhanced in pediatric IgA nephropathy. The Sixteen Congress of the International Pediatric Nephrology Association. 2013年8月30日-9月3日, Shanghai International Convention Center, Shanghai, China.
漆原真樹, 関勇輔, 田山貴広, 永井隆, 木下ゆき子, Ariunbold Jamba, 近藤秀治, 香美祥二: 小児IgA腎症の病態進展におけるACE2の役割検討.
第48回日本小児腎臓病学会学術集会. 2013年6月28日-29日, あわぎんホール, 徳島市.
永井隆, 万野朱美, 漆原真樹, 近藤秀治, 森健治, 香美祥二: ネフローゼ症候群を呈したCockayne症候群の一例.
第48回日本小児腎臓病学会学術集会. 2013年6月28日-29日, あわぎんホール, 徳島市.

Jamba A, Kondo S, Urushihara M, Nagai T, Kaneyama J K, Miyazaki A, Kagami S: Hic-5 regulates mesangial cell proliferation in proliferative glomerulonephritis 第48回日本小児腎臓病学会学術集会.

2013年6月28日-29日、あわぎんホール, 徳島市.

漆原真樹、木下ゆき子、永井隆、Ariunbold Jamba、近藤秀治、香美祥二: ラット半月体形成性腎炎モデルにおけるアリスキレンの治療効果第56回日本腎臓学会学術総会. 2013年5月10-12日、東京国際フォーラム, 東京都.

永井隆、万野朱美、漆原真樹、近藤秀治、森健治、香美祥二: ネフローゼ症候群を呈したCockayne症候群の一例

第116回日本小児科学会学術集会. 2013年4月19-21日、アステールプラザ, 広島県. Urushihara M, Kinoshita Y, Nagai T, Kondo S, Jamba A, Tamaki T, Kagami S: Effect of aliskiren on renal inflammation and (pro)renin receptor in crescentic glomerulonephritis.

The American Society of Nephrology Renal Week 2012 . 2012年10月30日-11月4日, San Diego Convention Center, San Diego, USA.

永井隆、木下ゆき子、岸夏子、松浦里、須賀健一、漆原真樹、近藤秀治、香美祥二: ブドウ膜炎に伴う尿細管間質性腎炎の再発に対してシクロスポリンが奏効した一児例. 第42回日本腎臓学会学術集会西部大会. 2012年10月26日-27日、沖縄コンベンションセンター, 沖縄県.

近藤秀治、松浦里、Ariunbold Jamba、漆原真樹、木下ゆき子、永井隆、須賀健一、岸夏子、香美祥二: 進行性系球体腎炎と培養系球体内皮細胞におけるp63の発現検討 第47回日本小児腎臓病学会学術集会. 2012年6月29日-30日、都市センターホテル, 東京都.

Ariunbold Jamba、近藤秀治、漆原真樹、木下ゆき子、永井隆、松浦里、須賀健一、岸夏子、香美祥二: Enhanced expression of glomerular angiotensinogen in the progressive mesangioproliferative glomerulonephritis in the rat

第47回日本小児腎臓病学会学術集会. 2012年6月29日-30日、都市センターホテル, 東京都.

近藤秀治、Ariunbold Jamba、松浦里、漆原真樹、木下ゆき子、須賀健一、永井隆、香美祥二: 進行性系球体腎炎でのアンジオテンシン 関連系球体内皮細胞障害におけるp63の発現. 第55回日本腎臓学会学術総会. 2012年6月1日-3日、

パシフィコ横浜, 神奈川県横浜市.

Ariunbold Jamba、近藤秀治、漆原真樹、木下ゆき子、松浦里、須賀健一、永井隆、香美祥二: ラット進行性メサンギウム増殖性系球体腎炎におけるアンジオテンシノーゲンの発現亢進 (glomerular angiotensinogen expression is enhanced in the progressive mesangioproliferative glomerulonephritis in the rat)

第55回日本腎臓学会学術総会. 2012年6月1日-3日、パシフィコ横浜, 神奈川県横浜市.

Matsuura S, Kondo S, Kinoshita Y, Suga K, Urushihara M, Kishi N, Nagai T, Jamba A, Kagami S: Reactive oxygen species generated by NADPH oxidase contribute to ureteric bud branching and nephrogenesis. Pediatric Academic societies annual meeting 2012 .

2012年4月28日-5月1日, The Hynes Convention Center, Boston, USA.

②① 漆原真樹、木下ゆき子、近藤秀治、須賀健一、松浦里、高松昌徳、香美祥二: 尿中アンジオテンシノーゲン測定による小児慢性腎炎患者の新たな病態指標

第115回日本小児科学会学術集会. 2012年4月20日-22日、福岡国際会議場, 福岡県.

②② 木下ゆき子、近藤秀治、須賀健一、松浦里、清水真樹、高松昌徳、漆原真樹、香美祥二: 半月体形成性系球体腎炎の進展におけるRAS、活性酸素の役割.

第23回腎とフリーラジカル研究会. 2011年10月2日、ホテルグランドパレス徳島, 徳島市.

②③ 木下ゆき子、森 達夫、須賀 健一、松浦 里、近藤 秀治、漆原 真樹、永井 隆、中川 竜二、西條 隆彦、森 健治、香美祥二: 伊藤白斑、滑脳症、難治性てんかんに膀胱尿管逆流 (VUR) を合併した一男児例 第41回日本腎臓学会西部学術大会. 2011年9月30日、あわぎんホール, 徳島市.

②④ 近藤秀治、Jamba Ariunbold、松浦里、漆原真樹、木下ゆき子、須賀健一、香美祥二: ラット腎発生でのFAKの発現とそのリン酸化第20回発達腎研究会. 2011年8月27日、駿河台日本大学病院, 東京都.

②⑤ 漆原真樹、小谷裕美子、小堀浩幸、香美祥二: 1型糖尿病では尿中アンジオテンシノーゲン排泄の増加はアルブミン尿より先行する.

第 114 回日本小児科学会学術集会.2011 年 8 月 12 日 - 14 日、グランドプリンスホテル新高輪,東京都.

- ②6 松浦里、近藤秀治、須賀健一、木下ゆき子、漆原真樹、香美祥二：腎発生における NADPH オキシダーゼ(Nox)の役割
第 54 回日本腎臓学会学術集会.2011 年 6 月 15 日 - 17 日、パシフィコ横浜,神奈川県横浜市.
- ②7 Urushihara M, Kinoshita Y, Matsuura S, Suga K, Takamatsu M, Shimizu M, Kondo S, Kobori H, Kagami S. Urinary angiotensinogen as a biomarker of the intrarenal status of the renin-angiotensin system in patients with chronic glomerulonephritis. 11th Asian Congress of Pediatric Nephrology 2011. 2011 年 6 月 2 日-4 日、Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, Japan.
- ②8 Matsuura S, Kondo S, Kinoshita Y, Suga K, Urushihara M, Takamatsu M, Shimizu M, Kishi N, Kagami S. The role of NADPH oxidase (Nox) in ureteric bud branching and nephrogenesis. 11th Asian Congress of Pediatric Nephrology 2011. 2011 年 6 月 2 日-4 日、Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, Japan.
- ②9 Matsuura S, Kondo S, Suga K, Kinoshita Y, Urushihara M, Takamatsu M, Shimizu M, Kishi N, Kagami S. A case of membranous nephropathy and open angle glaucoma complicated with asymptomatic Sjogren's syndrome. 11th Asian Congress of Pediatric Nephrology 2011. 2011 年 6 月 2 日-4 日、Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, Japan.
- ③0 Nagai T, Kinoshita Y, Matsuura S, Suga K, Urushihara M, Kondo S, Kagami S: A case of membranous nephropathy with cavernous hemangioma. 11th Asian Congress of Pediatric Nephrology 2011. 2011 年 6 月 2 日-4 日、Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, Japan.
- ③1 Kondo S, Matsuura S, Kinoshita Y, Suga K, Urushihara M, Nagai T, Tamaki T, Kagami S: The expression of NADPH oxidase and reactive oxygen species (ROS) production contribute to ureteric bud branching and

nephrogenesis.

World Congress of Nephrology 2011. 2011 年 4 月 8 日-12 日、Vancouver Convention Center, Vancouver, Canada.

〔図書〕(計 5 件)

Kagami S: Glomerular renin-angiotensin system activation-Implications in pathological glomerular remodeling(Chapter 6). In "Renin-angiotensin system" edited by Himura A and Sato T. Nova science publishers(USA). 239 (163-179), 2013.
香美祥二, 近藤秀治, 東京医学社, エビデンスに基づくCKD診療ガイドライン2013, 259 (163-207), 2013
香美祥二, 診断と治療社, 小児腎臓病学 日本小児腎臓病学会編, 460 (47-50), 2011.
香美祥二, 東京, 医学書院, 小児の急性腎炎症候群, 今日の治療指針2011, 2096 (1200-1201), 2011
香美祥二, 東京, 総合医学社, 慢性腎炎症候群 (IgA腎症を中心に), 小児診療ガイドライン-最新の診療指針-(第2版), 471 (305-308), 2011.

〔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

香美 祥二(KAGAMI, Shoji)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・教授
研究者番号：00224337

(2)研究分担者

近藤 秀治(KONDO, Shuji)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・講師

研究者番号：00380080

六反 一仁(ROKUTAN, Kazuhito)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・教授

研究者番号：10230898