

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590903

研究課題名（和文）メタボリック症候群（Mets）における慢性腎臓病（CKD）発症の分子基盤の解明

研究課題名（英文）Missing link between metabolic syndrome and chronic kidney disease. -Role of asymmetric dimethylarginine-

研究代表者：奥田 誠也（OKUDA SEIYA）

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：80158823

研究成果の概要（和文）：

MetS が CKD のリスクとなる機序として、内皮障害の関与が示唆されているが、その詳細は不明である。CKD 患者において、内皮障害因子 ADMA は Met 因子数、eGFR、蛋白尿と有意に相関した。また ADMA は心血管病サロゲートマーカーや腎機能低下速度の独立した規定因子であることが明らかとなった。実験動物を用いた検討で、MetS においては、ADMA の代謝酵素 DDAH の全身での発現異常により ADMA が上昇し、アディポサイトカインの異常やインスリン抵抗性の発症に関連するばかりでなく、心血管病や CKD の発症・進展に重要な役割を果たしていることが示された。

研究成果の概要（英文）：

Metabolic syndrome (MetS) is a strong risk factor for the initiation and development of chronic kidney disease (CKD). One possible factor that could explain this link seems to be endothelial dysfunction (ED). In CKD patients, ADMA levels were associated with metabolic factors and eGFR. Further, increased ADMA levels were associated with surrogate markers for cardiovascular disease as well as annual reduction rates of GFR. Animal models of MetS revealed that dysregulation of DDAH, an enzyme for ADMA could account for ADMA elevation, and therefore could contribute to the development and progression of cardiovascular disease as well as renal injury in Mets.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：メタボリック症候群・インスリン抵抗性・慢性腎臓病・ADMA

## 1. 研究開始当初の背景

申請時本邦では、およそ国民の 500 人に 1 人にあたる 27 万人が維持透析を受けており、その予備軍とされる CKD 患者は 400 万人を超

えると推察されて、この増加の背景には、高齢化、糖尿病や高血圧症などの生活習慣病の蔓延などの存在が考えられる。なかでも近年、メタボリック症候群（MetS）が心血管疾患

(CVD)のみならず CKD のリスク要因であることが明らかとなり、CKD 患者数の増加の主要な部分を担う因子として着目されてきている。MetS では CKD の有病率が上昇することが知られているが、久山町研究では、MetS の患者における CKD の有病率は 10.8%で、一般住民の 4.8%に比較し 2 倍以上であること、また 5 年間の追跡調査で MetS 患者の CKD 発症のリスクが 1.86 倍高いことなど報告されている (Am J Kidney Dis. 2006 Sep;48(3):383-91)。MetS が CKD のリスクとなる機序として、肥満に伴う糸球体濾過量の増加、インスリン抵抗性、内皮障害やアディポサイトカインの異常などの関与が示唆されているが、その詳細は不明である。

一方、血管内皮障害は CVD、CKD 共有のリスク因子であること、非対称性ジメチルアルギニン (ADMA) は MetS 患者で上昇し、その患者群における血管内皮機能低下に深く関与すること、また CKD では上昇した ADMA が、腎局所での内皮機能低下を介し、尿蛋白、糸球体硬化、間質線維化を引き起こし、腎障害の進展に深く関与することが知られている。

## 2. 研究の目的

以上の背景より、「内皮障害因子である ADMA が MetS と CKD を介在する因子である」との仮説を立て、検証および新しい治療戦略の確立のため以下の検討を行った。

## 3. 研究の方法

当科施行中の CKD 患者の疫学調査のデータベースで ADMA の蓄積と metabolic factor との関連を検討し、日本人、また CKD を背景とした患者群でも MetS と ADMA の関連を確認すると共に、ADMA の増加が臓器障害のサロゲートマーカーと関連するか否かを検討する。また、ADMA の上昇機序の詳細、上昇した ADMA が真に生理活性を持ち、CKD や心血管障害の進展に関与するか否かを、MetS モデル動物を作製し、ADMA の代謝酵素である DDAH を遺伝学的手法 (transgenic mice (Stanford 大学、John P Cooke 教授より供与)、adenovirus vector、SiRNA、DDAH inhibitor) をつかって ADMA を増減させた場合の臓器障害の変化を比較することにより、MetS における ADMA の役割を明らかにする。

## 4. 研究成果

CKD 患者において、ADMA は加齢や Met 因子数、eGFR、蛋白尿と有意に関連することが明らかとなった。またこの患者群において ADMA の上昇は内頸動脈内膜中膜厚、脈波伝播速度、心エコー図における左室重量係数などの動脈硬化、心血管病サロゲートマーカーの独立した規定因子であることが明らかとなった。また観察初期の ADMA と年次 eGFR 低下速度の関連も観察された。

実験動物を用いた検討では、Wild mice (n=10) に High fat diet (HFD) を行い、メタ

ボリック症候群 (MetS) モデルを作成し、対照群 (n=20) と ADMA やその産生・代謝酵素の発現を比較した。さらに ADMA の代謝酵素である DDAH のトランスジェニック mice (DH Tg) にも HFD を行い (n=9)、ADMA の低下がいかに病態に関与するかを検討した。その結果、HFD マウスは、体重増加、高血糖、食後のインスリン上昇、脂肪組織含む全身での DDAH 発現の低下、ADMA の蓄積を認めた。また、脂肪組織では、脂肪細胞周囲毛細血管密度 (CD) の低下、脂肪細胞の肥大、虚血マーカーである HIF1 $\alpha$  の発現亢進が観察され、血清アディポネクチンの低下を認めた。HFD-DH Tg では、ADMA の上昇が抑制され、体重増加の抑制、高インスリン血症の改善が観察され、脂肪局所では CD 低下の抑制に伴い、HIF1 $\alpha$  発現亢進の抑制、脂肪細胞の縮小、血清アディポネクチン上昇が観察された。また野性型 HFD で認められた腎病変 (糸球体肥大、メサンギウム領域の拡大、基質の増加、アルブミン尿) も ADMA を低下させることによりほぼ正常に復していた。

これらの結果は MetS では DDAH 発現低下により、ADMA が上昇する。蓄積した ADMA は脂肪局所での微少血管内皮障害、脂肪細胞の虚血を引き起こし、アディポサイトカインの異常や IR の発症に関連する可能性が示唆された。また上昇した ADMA は心肥大や動脈硬化の進展のみならず、CKD の発症・進展に重要な役割を果たしていることが示され、新規治療標的としての可能性が示された。

## 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 8 件)

1. Ando R, Ueda S, Yamagishi S, Miyazaki H, Kaida Y, Kaifu K, Yokoro M, Nakayama Y, Obara N, Fukami K, Takeuchi M, Okuda S. Involvement of advanced glycation end product-induced asymmetric dimethylarginine generation in endothelial dysfunction. Diabetes & Vascular Disease Research. (査読有) In press.
2. Ueda S, Yamagishi S, Yokoro M, Okuda S. Role of asymmetric dimethylarginine in cardiorenal syndrome. Current Pharmaceutical Design (査読有) in press.
3. Kaida Y, Ueda S, Yamagishi S, Nakayama Y, Ando R, Iwatani R, Fukami K, Okuda S. Proteinuria elevates asymmetric dimethylarginine levels via protein arginine methyltransferase-1 overexpression

- in a rat model of nephrotic syndrome. Life Sci. (査読有) 2012 ;91(9-10):301-5
4. Kajimoto H, Kai H, Aoki H, Yasuoka S, Anegawa T, Aoki Y, Ueda S, **Okuda S**, Imaizumi T. Inhibition of eNOS phosphorylation mediates endothelial dysfunction in renal failure: new effect of asymmetric dimethylarginine. Kidney Int. (査読有) 2012;81(8):762-8.
  5. Fujimi-Hayashida A, Ueda S, Yamagishi S, Kaida Y, Ando R, Nakayama Y, Fukami K, **Okuda S**. Association of asymmetric dimethylarginine with severity of kidney injury and decline in kidney function in IgA nephropathy. Am J Nephrol. (査読有) 2011;33(1):1-6.
  6. Ueda S, Yamagishi S, **Okuda S**. New pathways to renal damage: role of ADMA in retarding renal disease progression. J Nephrol. (査読有) 2010 ;23(4):377-86.
  7. Ueda S, Yamagishi S, Matsumoto Y, Kaida Y, Fujimi-Hayashida A, Koike K, Tanaka H, Fukami K, **Okuda S**. Involvement of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in glomerular capillary loss and sclerosis in a rat model of chronic kidney disease (CKD). Life Sci. (査読有) 2009;84(23-24):853-6.
  8. Shibata R, Ueda S, Yamagishi S, Kaida Y, Matsumoto Y, Fukami K, Hayashida A, Matsuoka H, Kato S, Kimoto M, **Okuda S**. Nephrol Dial Transplant. (査読有) 2009; 24(4): 1162-9

[学会発表] (計2件)

1. 岩谷龍治、**奥田誠也**、他. MetSにおけるインスリン抵抗性発症についての検討-血管内皮障害因子 ADMA の役割の解明-第 86 回日本内分泌学会学術総会 (2013 年 4 月 26 日, 仙台)
2. **Okuda S**, et al. Involvement of DDAH-ADMA axis in accelerated renal injury in acute ischemia-reperfusion injury. American society of nephrology. (Nov 19, 2010, Denver)

[図書] (計0件)

[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

奥田誠也 (OKUDA SEIYA)  
久留米大学・医学部・教授  
研究者番号 : 80158823

### (2) 研究分担者

上田誠二 (UEDA SEIJI)  
久留米大学・医学部・准教授  
研究者番号 : 80322593

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号 :