

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461612

研究課題名(和文)半月体形成性腎炎における(プロ)レニン受容体を介した病態機序の解明と新規治療法

研究課題名(英文)(Pro)renin receptor-mediated pathophysiology in crescentic nephritis

研究代表者

漆原 真樹 (URUSHIHARA, Maki)

徳島大学・病院・講師

研究者番号：50403689

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：新規に開発されたレニン・アンジオテンシン系阻害薬である直接レニン阻害薬を系球体半月体形成性腎炎動物モデルに投与してその治療効果を検討した。直接レニン阻害薬投与により半月体の形成率や尿蛋白量が軽減しており腎炎の進展抑制効果がみられた。また培養系球体細胞実験から(プロ)レニン受容体を介した細胞増殖や炎症細胞浸潤も明らかとなり、腎炎におけるレニン・アンジオテンシン系の新たな病態機序と治療法の開発が期待できた。

研究成果の概要(英文)：To examine whether direct renin inhibition ameliorate renal injury in crescentic glomerulonephritis, we investigated the effects on renal injury in experimental animal model. As a result, glomerular crescents rates and proteinuria were reduced by the treatment with direct renin inhibitor. Furthermore, primary cultured glomerular cells indicated cell proliferation and macrophage infiltration via (pro)renin receptor. These results suggest that therapeutic strategy of direct renin inhibition may prove beneficial for crescent GN and the novel mechanism via (pro)renin receptor are involved in glomerular crescent formation.

研究分野：内科系臨床医学

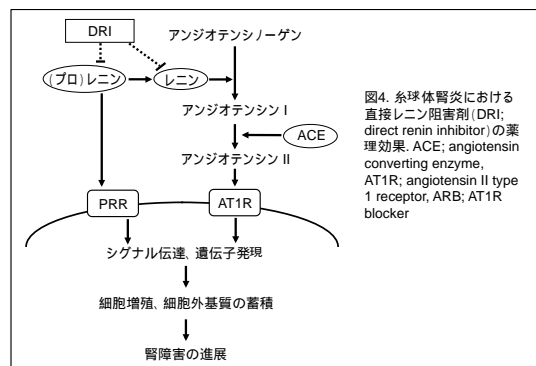
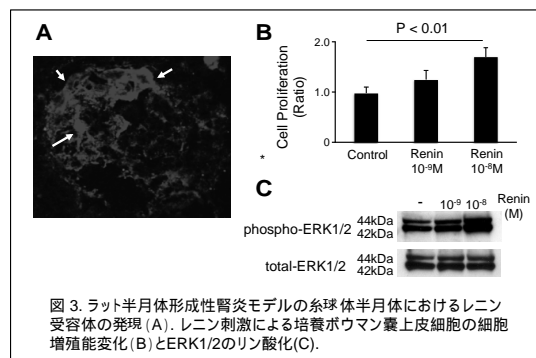
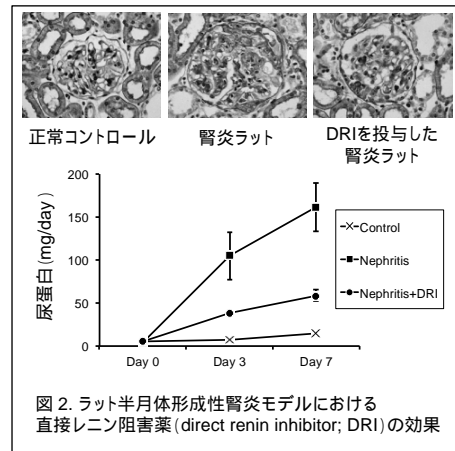
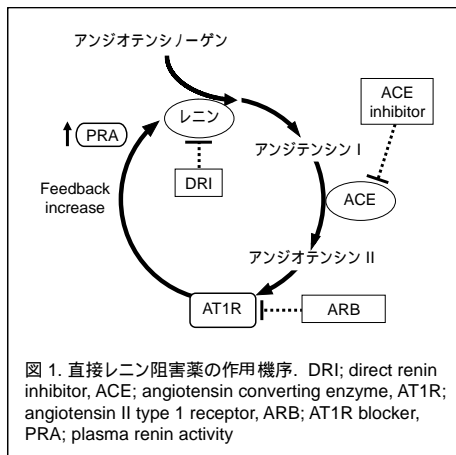
キーワード：アンジオテンシン 半月体形成性腎炎 レニン

## 1. 研究開始当初の背景

レニン・アンジオテンシン系 (renin-angiotensin system: RAS) は全身の血圧および水分調節の最も重要な制御機構の一つである。その一方で、腎臓内での RAS の活性化は糸球体内圧の上昇、糸球体細胞の過形成、細胞外基質の蓄積を誘導し腎障害の進展に深く関与することが明らかとなっている。そのため、RAS 阻害薬であるアンジオテンシン変換酵素阻害薬やアンジオテンシンタイプ1受容体拮抗薬は腎障害進展の抑制を目的として臨床の現場で広く用いられている (図1)。しかし、近年になって最も新しく開発された RAS 阻害薬である直接レニン阻害薬 (direct renin inhibitor: DRI) の腎障害、とりわけ腎炎進展抑制効果はまだ十分解明されていない。

申請者はこれまで糸球体腎炎の病態における腎臓内 RAS 活性化の関与を、基礎研究 (および臨床研究の両側面から) 続けてきた。次に、DRI に着目し、その腎炎進展抑制効果をラット半月体形成性腎炎モデルを用いて検証してみた。その結果、DRI は糸球体半月体の形成を抑制しており従来の RAS 阻害薬と同様に腎障害進展抑制効果があることを証明した (図2)。そのなかで糸球体半月体では (プロ)レニン受容体 (Pro-renin receptor: PRR) が強く発現しており、また半月体構成細胞であるポウマン嚢上皮細胞を単離培養して (プロ)レニンで刺激してみたところ細胞増殖能の上昇と細胞内シグナルの ERK1/2 のリン酸化というたいへん興味深い予備データを得た (図3)。(プロ)レニン-PRR は最近注目されている RAS の新たな経路で、細胞内シグナルの活性化によりこれまでの RAS の報告にはない生理活性を持つことが明らかとなっている (図4)。

そこで本研究では DRI の持つ RAS 抑制作用と PRR を介した直接的な細胞障害阻止作用による従来の RAS 阻害薬にはなかった腎炎進展抑制機序を解明し、そこからより効果的で優れた治療戦略を模索することにした。



## 2. 研究の目的

本研究では DRI が有する RAS 抑制作用と (プロ)レニン受容体 (pro-renin receptor: PRR) を介した直接的な細胞障害阻止作用によるこれまでにない糸球体腎炎進展抑制機序の解明を目的とする。そのために、(1) DRI を投与したラット半月体形成性腎炎モデルにおける PRR の発現変化、(2) 糸球体半月体の構成細胞を単離培養し (プロ)レニンの刺激による細胞内シグナル伝達機構の解明を具体的な研究目標とする。

### 3. 研究の方法

(1) ラット半月体形成性腎炎モデルにおける直接レニン阻害薬の腎炎進展抑制効果と PRR の発現変化の検討

生後 7 週齢の Wistar Kyoto ラットに抗糸球体基底膜抗体を尾静脈から投与し、糸球体内増殖変化とそれに続く半月体病変を惹起した。DRI を投与して血圧測定、採尿を施行して尿蛋白量を測定し、腎臓を摘出しパラフィン包埋切片を作成した。PAS 染色において半月体の形成率、スコアを評価した。さらに単離糸球体における PRR の発現を評価した。

(2) (プロ)レニン刺激による培養ラット糸球体ボウマン嚢上皮細胞とメサンギウム細胞の検討

ラットから摘出した腎臓から糸球体を単離しボウマン嚢上皮細胞とメサンギウム細胞を培養する。(プロ)レニンによる刺激を与えそれぞれ細胞増殖能とリアルタイム PCR 法により遺伝子発現量を検討した。

### 4. 研究成果

抗糸球体基底膜抗体を投与して腎炎を惹起したラットは正常コントロールに比して血圧が上昇し、高度の蛋白尿を認めた(図 5)。DRI を投与したラットは血圧が低下し、尿蛋白量も低下していた。治療対照群として RAS に作用しない降圧薬 (hydalazine, reserpine, hydrochlorotiazide の三剤併用) を投与したラットは血圧は低下したが、尿蛋白量は変化がなかった。

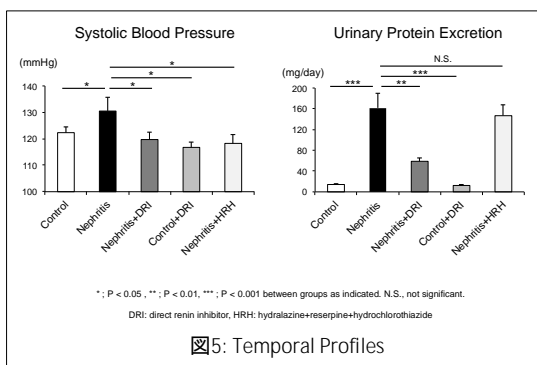


図5: Temporal Profiles

また DRI を投与したラットは無治療群に比して有意に半月体形成率が抑制されており、三剤併用療法群は変化がなかった(図 6)。さらに半月体スコアも同様であった。

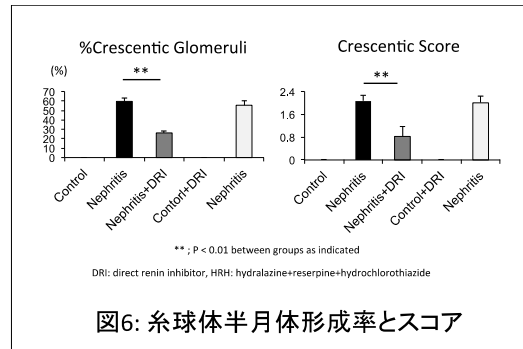


図6: 糸球体半月体形成率とスコア

摘出したラットの糸球体を単離し、リアルタイム PCR 法で PRR の発現を検討したところ腎炎ラットの糸球体では PRR が過剰発現しており DRI 投与で抑制されていることが明らかとなった。また三剤併用療法群では変化がなかった(図 7)。

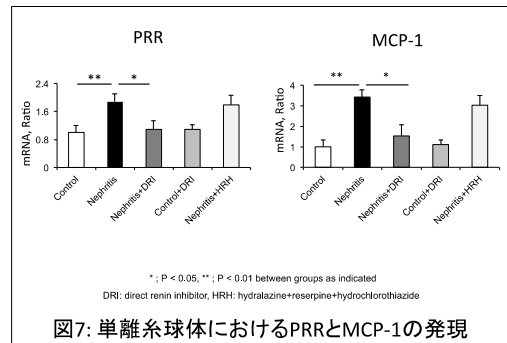


図7: 単離糸球体における PRR と MCP-1 の発現

そして(プロ)レニンによる刺激で細胞増殖能が上昇していた培養ラット糸球体ボウマン嚢上皮細胞は ERK 阻害薬である PD98059 と siRNA による PRR のノックダウンにより抑制されていた。

さらに培養ラットメサンギウム細胞に(プロ)レニンによる刺激を与えるとマクロファージ遊走因子である MCP-1 の発現が増強していた。腎炎モデルの単離糸球体でも MCP-1 の発現は増強しており、DRI を投与したラットでは抑制されていた。また PRR を siRNA でノックダウンした培養メサンギウム細胞では MCP-1 の増加はみられなかった。

これらの結果から、半月体形成性腎炎における PRR を介したボウマン嚢上皮細胞増殖、マクロファージ浸潤による半月体形成病態機序が示唆された。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

漆原 真樹 (URUSHIHARA, Maki)

徳島大学・病院・講師

研究者番号：50403689

(2)研究分担者

香美 祥二 (KAGAMI, Shoji)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授

研究者番号：00224337

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

永井 隆 (NAGAI, Takashi)