

## 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 6 月 19 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590906

研究課題名（和文）生理活性ペプチドの特異性を生かした新しい腎疾患治療開発に向けた基盤的研究

研究課題名（英文）Basic Research toward Discovery for New Renal Treatment using Bioactive Peptides

研究代表者

吉原 史樹（YOSHIHARA FUMIKI）

独立行政法人国立循環器病研究センター・病院・医長

研究者番号：70393220

研究成果の概要（和文）：

腎間質の線維化は腎予後の独立規程因子であることが知られている。我々は腎間質線維化を促進させるアンギオテンシン II（Ang II）をナトリウム利尿ペプチド（ANP および BNP）の生理活性受容体である guanylyl cyclase A（GC-A）欠損マウス（GC-A-KO）および内皮特異的 GC-A 強発現マウスに持続投与した。内因性ナトリウム利尿ペプチドは Ang II による尿細管細胞萎縮、間質線維化、尿細管細胞と線維芽細胞の形質転換を抑制する作用を有する可能性が示唆され、その機序のひとつとして腎組織の血流維持に果たす役割が関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Chronic angiotensin II（Ang II）infusion promotes renal interstitial fibrosis. To evaluate the pathophysiological significance of the natriuretic peptide-GC-A system, we infused Ang II in GC-A-deficient mice（GC-A-KO）and wild mice. The natriuretic peptide-GC-A system may play an inhibitory role in Ang II-induced renal tubular atrophy, interstitial fibrosis, and phenotypic transformation in renal tubular cells and fibroblasts. Renal blood flow evaluated using microspheres was significantly lower in GC-A-KO mice than that in wild mice. The reduction of renal blood flow in GC-A-KO mice relative to that in wild mice may be one possibility for advanced renal tubular damage and interstitial fibrosis in Ang II-infused GC-A-KO.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：腎臓内科学

科研費の分科・細目：

キーワード：生理活性ペプチド、腎疾患

## 1. 研究開始当初の背景

B型ナトリウム利尿ペプチド (BNP) の遺伝子改変マウスを用いて、腎垂全摘モデル、抗基底膜抗体腎炎モデル、糖尿病性腎症モデルにおいてナトリウム利尿ペプチドが腎保護作用を有することが報告されている。ただし、遺伝子改変モデルでは血中BNPレベルが著しく高値であるため、内因性ナトリウム利尿ペプチドの意義検討が必要であった。Ogawaらは心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) およびBNPの生理活性受容体である guanylyl cyclase A (GC-A) 欠損マウスを用いて重症高血圧モデルを作成し、内因性ナトリウム利尿ペプチドが腎糸球体保護作用を有することとそのメカニズムとしてレニン・アンジオテンシン系抑制とポドサイトの酸化ストレス抑制が関与することを報告している。

## 2. 研究の目的

マウスにアンジオテンシン II (Ang II) を投与すると尿細管細胞萎縮、尿細管拡張、間質線維化が進行するが、糸球体の器質的变化は少ないことが報告されている。今回我々は Ang II を GC-A 欠損マウスおよび内皮特異的 GC-A 強発現マウスに投与することで、内因性ナトリウム利尿ペプチド (ANP と BNP) の腎尿細管および間質線維化に及ぼす役割について検討を行った。

## 3. 研究の方法

GC-A 欠損マウスおよび内皮特異的 GC-A 強発現マウスに対して Ang II を投与し、生理学および生化学的評価として、脈拍数、血圧、尿蛋白排泄量、尿中 N アセチルグルコサミンダーゼ排泄量など定量、クレアチニンクリアランスを算出。組織学的評価として、尿細管萎縮 Index、間質線維化 Index を定量評価し、Monocyte chemotactic protein-1、F4/80、alpha-smooth muscle actin、E-cadherin の免疫組織染色を行った。また、分子生物学的評価として Monocyte chemotactic protein-1、Podocin、Osteopontin の定量 PCR を施行。さらに、マイクロスフェア法にて腎血流の評価を行った。

## 4. 研究成果

Ang II 投与による尿細管細胞萎縮や間質線維化は GC-A-KO においてコントロールと比較して有意に亢進した。ヒドララジンによる降圧はいずれも抑制しなかった。Ang II は髄質集合管の monocyte chemotactic protein-1 や間質の F4/80 と alpha-smooth muscle actin の発現を亢進させ、尿細管細胞の E-cadherin 発現を低下させたが、これらの程度はコントロールに比べて GC-A-KO にて亢進していた。次に、Ang II を内皮特異的 GC-A 強発現マウスに投与したところ、尿細管細胞萎縮や間質の線維化はコントロールと同様であった。以上より、内因性ナトリウム利尿ペプチドは

Ang II による尿細管細胞萎縮、間質線維化、尿細管細胞と線維芽細胞の形質転換を抑制する作用を有する可能性が示唆された。さらに、マイクロスフェア法を用いて腎血流量の定量評価を行ったところ、GC-A-KO においてコントロールと比較して腎血流量は有意に低下していた。以上より、内因性 Na 利尿ペプチドは、Ang II 投与による腎臓の尿細管萎縮や線維化および尿細管細胞や線維芽細胞の形質変換を抑制するが、その機序のひとつとして腎組織の血流維持に果たす役割が関与している可能性が示唆された。

## 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7件)

1: Horio T, Iwashima Y, Kamide K, Tokudome T, Yoshihara F, Nakamura S, Kawano Y. Chronic kidney disease as an independent risk factor for new-onset atrial fibrillation in hypertensive patients. J Hypertens. 2010 Aug;28(8):1738-1744. (査読あり)

2: Nishida H, Horio T, Suzuki Y, Iwashima Y, Tokudome T, Yoshihara F, Nakamura S, Kawano Y. Interleukin-6 as an independent predictor of future cardiovascular events in high-risk Japanese patients: comparison with C-reactive protein. Cytokine. 2011 Mar;53(3):342-346. (査読あり)

3: Suzuki C, Nakamura S, Ishibashi-Ueda H, Yoshihara F, Kawano Y. Evidence for severe atherosclerotic changes in chronic hemodialysis patients: comparative autopsy study against cardiovascular disease patients without chronic kidney disease. Ther Apher Dial. 2011 Feb;15(1):51-57. (査読あり)

4: Kamide K, Kokubo Y, Yang J, Takiuchi S, Horio T, Matsumoto S, Banno M, Matayoshi T, Yasuda H, Miwa Y, Yoshihara F, Nakamura S, Nakahama H, Iwashima Y, Oguro R, Ohishi M, Rakugi H, Okamura T, Miyata T, Kawano Y. Association of intima-media thickening of carotid artery with genetic polymorphisms of the regulator of G-protein signaling 2 gene in patients with hypertension and in the general population. Hypertens Res. 2011 Jun;34(6):740-746. (査読あり)

5: Niizuma S, Nakamura S, Ishibashi-Ueda H, Yoshihara F, Kawano Y. Kidney function and histological damage in autopsy subjects with myocardial infarction. Ren Fail. 2011;33(9):847-852. (査読あり)

6: Doi Y, Iwashima Y, Yoshihara F, Kamide K, Hayashi S, Kubota Y, Nakamura S, Horio T, Kawano Y. Renal resistive index and cardiovascular and renal outcomes in essential hypertension. Hypertension. 2012 Sep;60(3):770-777. (査読あり)

7: Doi Y, Iwashima Y, Yoshihara F, Kamide K, Takata H, Fujii T, Kubota Y, Nakamura S, Horio T, Kawano Y. Association of renal resistive index with target organ damage in essential hypertension. Am J Hypertens. 2012 Dec;25(12):1292-1298. (査読あり)

[学会発表] (計 14 件)

1. Na 利尿ペプチド受容体：グアニリルシクラーゼ A (GC-A) 欠損マウスでは尿細管障害や間質線維化が亢進する 吉原史樹 徳留健 岸本一郎 桑原篤憲 堀尾武史 河野雄平 寒川賢治 第 53 回日本腎臓学会学術総会 2010.6 (神戸)

2. 腎 Doppler 検査における Resistive Index と腎組織像との関連 土井洋平 吉原史樹 植田初枝 中村敏子 藤井 健 岩嶋義雄 堀尾武史 河野雄平 第 53 回日本腎臓学会学術総会 2010.6 (神戸)

3. 日本人高血圧患者における RA 系阻害薬の心房細動新規発症抑制効果を検証する 堀尾武史 岩嶋義雄 神出 計 徳留 健 高田英明 藤井 健 吉原史樹 堀尾武史 中村敏子 河野雄平 第 33 回日本高血圧学会総会 2010.10 (福岡)

4. 内因性ナトリウム利尿ペプチドの尿細管障害や間質線維化への関与 - グアニリルシクラーゼ A (GC-A) 欠損および内皮特異的 GC-A 強発現マウスでの検討 - 吉原史樹、徳留 健、岸本一郎、堀尾武史、河野雄平、寒川賢治 第 40 回日本心臓血管作動物質学会 2011. 2 (香川)

5. Aggravated renal tubular damage and interstitial fibrosis in mice lacking guanylyl cyclase-A (GC-A), a receptor for atrial and B-type natriuretic peptides Fumiki Yoshihara, Takeshi Tokudome, Ichiro Kishimoto, Takeshi Horio, Yuhei Kawano, Kenji Kangawa American Society of

Nephrology 2010 2010.11 (Denver, USA)

6. 腎 Doppler 検査における Resistive Index は心血管疾患発症の予測因子である 土井洋平、吉原史樹、岩嶋義雄、高田英明、藤井健、堀尾武史、中村敏子、河野雄平 第 54 回日本腎臓学会学術総会 2011.6(横浜)

7. 急性心不全症例における腎障害の意義 - nCASCADE database を用いた検討 - 高谷陽一、吉原史樹、藤野雅史、高濱博幸、神崎秀明、河野雄平、寒川賢治、横山広行 第 54 回日本腎臓学会学術総会 2011.6(横浜)

8. Renal resistive index is an independent predictive marker for the incidence of cardiovascular disease Doi Y, Yoshihara F, Iwashima Y, Horio T, Nakamura S, Kawano Y. XLVIII ERA-EDTA Congress, 2011.6(Prague, Czech Republic)

9. 急性心不全治療におけるカルペリチド投与と臨床像の関連 - nCASCADE database を用いた検討 - 高谷陽一、吉原史樹、藤野雅史、高濱博幸、神崎秀明、河野雄平、寒川賢治、横山広行 第 15 回日本心血管内分泌代謝学会 2011.11 (大阪)

10. Acute Kidney Injury (AKI) is an Independent Predictor of In-hospital and Long-term Mortality in Acute Decompensated Heart Failure (ADHF) Patients. Yoichi Takaya, Fumiki Yoshihara, Hideaki Kanzaki, Masafumi Kitakaze, Yoichi Gotoh, Hiroshi Nonogi, Yuhei Kawano, Hiroyuki Yokoyama 第 76 回日本循環器学会学術集会 2012.3 (福岡)

11. Carperitide Therapy is a Risk for Acute Kidney Injury in Acute Decompensated Heart Failure Patients with Advanced Renal Impairment. Yoichi Takaya, Fumiki Yoshihara, Hideaki Kanzaki, Masafumi Kitakaze, Yoichi Gotoh, Hiroshi Nonogi, Yuhei Kawano, Hiroyuki Yokoyama 第 76 回日本循環器学会学術集会 2012.3 (福岡)

12. 経皮経管的腎動脈形成術 (PTRA) 時の腎機能障害に関与する因子 吉原史樹、福田哲也、岩嶋義雄、中村敏子、林真一郎、高田英明、藤井健、河野雄平 第 55 回日本腎臓学会学術総会 2012.6(横浜)

13. 本態性高血圧における臓器障害評価としての腎血流量測定の有用性 岩嶋義雄、土井洋平、吉原史樹、高田英明、藤井健、中村敏子、堀尾武史、河野雄平 第 35 回日本高血圧

学会総会 2012.9(名古屋)

14. Renal Resistive Index Predicts Cardiovascular Outcomes in Essential Hypertension. Iwashima Y, Doi Y, Yoshihara F, Kamide K, Hayashi S, Kubota Y, Nakamura S, Horio T, Kawano Y. American Heart Association Scientific Sessions 2012.11 (Los Angeles)

〔図書〕(計1件)

1. 吉原史樹：全身性疾患に合併する心疾患腎不全と心疾患 「心エコー」14：294-301, 2013.

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

吉原 史樹 (YOSHIHARA FUMIKI)  
独立行政法人国立循環器病研究センター・病院・医長  
研究者番号：70393220

##### (2)研究分担者

徳留 健 (TOKUDOME TAKESHI)  
独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・室長  
研究者番号：00443474

##### (3)連携研究者

なし