

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591210

研究課題名(和文)急性腎障害における非対称性ジメチルアルギニンの生命予後、腎予後に果たす役割の検討

研究課題名(英文)Role of ADMA in acute kidney injury

研究代表者

上田 誠二 (Seiji, Ueda)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：80322593

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、急性腎障害(AKI)におけるADMAの動態を検討し、ADMA上昇の機序を、さらには上昇したADMAが如何に腎障害に関与するか明らかにするため、以下の検討を行った。(基礎研究)虚血再還流モデルを用いた検討では、ADMAが蓄積し、その上昇が腎微小血管障害を介して、その病態に関与することが明らかとなった。(臨床研究)待機的冠動脈造影を行う55名の患者において、造影剤の使用は明らかにADMAを増加させ、その上昇が検査以降のGFRの低下率に関与する可能性が示唆された。これらの結果より、ADMAが急性腎障害の病態に深く関与し、あらたな予防や治療標的となり得ることが見出された。

研究成果の概要(英文)：Injury to the renal vasculature plays important roles in the pathogenesis of acute kidney injury (AKI). Asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous NO synthase inhibitor, could enhance kidney injury during AKI by causing vascular damage. (Basic research) We investigated the roles of ADMA in AKI using ischemia/reperfusion (I/R)-induced renal injury model mice. I/R injury-induced oxidative stress may reduce DDAH, a degrading enzyme for ADMA, expression and cause ADMA accumulation, which may contribute to capillary loss and tubular necrosis in the kidney. (Clinical research) We next investigated whether ADMA could be a predictor for AKI in 55 patients undergoing elective coronary angiography (CAG). Although no cases of obvious AKI assessed by changes in creatinine levels were identified, administration of contrast medium caused significant increases in plasma ADMA levels. Further, elevated ADMA was tended to correlate to annual eGFR loss in these subjects.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：腎臓内科学

キーワード：急性腎障害 内皮障害 ADMA

## 1. 研究開始当初の背景

近年、急性腎障害(AKI)は、生命予後や多臓器不全、CKD への移行することが明らかとなり、この疾患の重要性が認識されている。これまで AKI では尿細管細胞障害が病態の主体であると考えられてきたが、近年傍尿細管毛細血管における血流異常・内皮障害も AKI の病態に深く関与することが明らかとなってきている。

また非対称性ジメチルアルギニン(ADMA)は内因性の血管内皮障害因子であり、移植腎の生着や長期腎予後のマーカーとなり得ること、また ICU 入院患者の多臓器不全や生命予後のリスク因子であることが報告された。

したがって、AKI で上昇した ADMA (あるいは元々 ADMA レベルの高い患者)は、AKI 時の生命予後、腎障害の増悪因子、あるいは CKD への移行を説明できる重要な因子であることが予想される。以上より、AKI 時の ADMA の動態や病態における役割を明らかにし、その制御方法を探索することは、AKI の治療法を確立するために重要と考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、AKI における ADMA やその関連酵素の動態を検討し、ADMA 上昇の分子メカニズムを、さらには上昇した ADMA が如何に臓器障害(特に腎障害)や生命予後に関与するか明らかにし、AKI の新たな治療戦略を開発することである。

## 3. 研究の方法

### 1). AKI モデル動物における ADMA の動態、役割の解明

AKI のモデル動物として虚血再還流(IR)モデルを作成し、血中、尿中のジメチルアルギニン、これらの調節に重要な役割を果たす酵素群の動態の検討を行う。また病態に果たす意義を検討するために遺伝子改変マウス(DDAH Tg)及び持続ポンプにて ADMA を上昇させた群に、虚血再還流を惹起し病態に及ぼす影響を検討する。

### 2). ADMA はヒト AKI のリスク予期因子となり得るかの検討

待機的冠動脈造影検査予定の CKD 患者の施行前の ADMA と造影剤腎症発症との関連を、また造影剤使用による ADMA の動態を検討する。

## 4. 研究成果

AKI モデルマウスとして虚血再還流モデル(I/R)を作成し、検討を行ったところ、ごく早期より、腎における ADMA の代謝酵素である DDAH の発現が著明に低下し、それに伴い血中、組織中の ADMA が蓄積することが観察された。この低下の程度は I/R に伴う酸化ス

トレスの程度と密接に関与し、抗酸化剤やプロテアソームインヒビターの前投与によりほぼ完全に抑制された。また皮下ポンプによる ADMA の持続投与を行うと、I/R に伴う内皮の脱落、尿細管壊死、腎機能障害がさらに増悪すること、また DDAH の過剰発現マウスでは ADMA の低下に伴い、これらの変化は軽減され、腎機能障害が予防できることが明らかとなった。これらの結果から、I/R に伴う酸化ストレスの亢進とそれに伴うプロテオソーム依存性の DDAH 分解による ADMA の蓄積が微小血管障害を介して AKI の病態に深く関与することが明らかとなった。

当院心臓血管内科で待機的冠動脈造影を行った 55 名を対象とし造影剤使用前後の ADMA の動態、病態への関与の検討を行った。対象患者のベースラインは年齢  $68.8 \pm 20.6$  歳、血清 Cr  $0.95 \pm 0.31$ mg/dl、eGFR  $63.0 \pm 31.5$  ml/min/1.73m<sup>2</sup>、造影剤使用量は  $100.5 \pm 110.8$ ml であった。この患者群では、血清 Cr や尿中 Ngal は有意な上昇は認めなかったが、造影剤使用翌日では、高感度 CRP ( $1725.5 \pm 4124.7$   $4201.3 \pm 1529.4$ ng/ml)、血清 ADMA ( $0.57 \pm 0.11$   $0.62 \pm 0.09$ nmol/ml)、尿中 8OHdG ( $11.38 \pm 5.73$   $12.66 \pm 6.13$ ng/gCr) と有意に上昇していた。今回の対象とした症例では造影剤腎症の発症を認めず、術前の ADMA が AKI の予期マーカーとなり得るか否かは不明であったが、これら上昇したマーカーとその後の GFR の低下率との関連が見出された。

以上の結果より、ADMA-DDAH 系は AKI の病態に深く関与し、新たな予防手段の確率や治療標的になり得ると考えられた。

## 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 10 件)

1. Nakayama Y, UedaS, Yamagishi S, Okuda S. Asymmetric dimethylarginine accumulates in the kidney during ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int.* 85:570-8, 2014 (査読有)
2. Ueda S, Yamagishi S, Okuda S. Role of asymmetric dimethylarginine in cardiorenal syndrome. *Curr Pharm Design.* 20:2448-55, 2014(査読有)
3. 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. *Diab Vasc Dis Res.* 10(5):436-41, 2013 (査読有)
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.* , 81:762-8,2012(査読有)
5. Kaida Y, Ueda S, Yamagishi SI, 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.* 24;91(9-10):301-5, 2012 (査読有)
6. Ishibashi Y, Yamagishi S, Matsui T, Ohta K, Tanoue R, Takeuchi M, Ueda S, Nakamura K, Okuda S. Pravastatin inhibits advanced glycation end products (AGEs) induced proximal tubular cell apoptosis and injury by reducing receptor for AGEs (RAGE) level. *Metabolism*, 61(8):1067-72, 2012(査読有)
7. shibashi Y, Yamagishi S, Matsui T, Ohta K, Tanoue R, Takeuchi M, Ueda S, Nakamura K, Okuda S. Pravastatin inhibits advanced glycation end products (AGEs) induced proximal tubular cell apoptosis and injury by reducing receptor for AGEs (RAGE) level. *Metabolism*, 61(8):1067-72, 2012(査読有)
8. Yamagishi SI, Maeda S, Matsui T, Ueda S, Fukami K, Okuda S. Role of advanced glycation end products (AGEs) and oxidative stress in vascular complications in diabetes. *Biochim Biophys Acta.* 1820(5):663-71, 2012 (査読有)
9. Fujimi-Hayashida A, Ueda S, Yamagishi S, Kaida Y, Ando R, Nakayama Y, Fukami K, Okuda S. Association of ADMA with severity of kidney injury and decline in kidney function in IgA nephropathy. *Am J Nephrol.* 33:1-6, 2011(査読有)
10. Nagano M, Fukami K, Yamagishi S, Sakai K, Kaida Y, Matsumoto T, Hazama T, Tanaka M, Ueda S, Okuda S. Tissue level of advanced glycation end products is an independent determinant of high-sensitivity C-reactive protein levels in haemodialysis patients. *Nephrology (Carlton)*. 16:299-303,2011(査読有)
- 〔学会発表〕(計 1件)
1. 上田誠二、奥田誠也 心腎連関におけるジメチルアルギニンの役割 日本腎臓学会西部学術大会 (平成23年9月30日、徳島)
- 〔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

上田 誠二 (UEDA, Seiji )

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：80322593

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：