

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591214

研究課題名(和文) 糖尿病におけるプロレニンの尿細管再吸収と組織レニン・アンジオテンシン系の検討

研究課題名(英文) Renal renin-angiotensin system and tubular prorenin endocytosis in diabetic nephropathy with microalbuminuria

研究代表者

藤乗 嗣泰 (Tojo, Akihiro)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50292917

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：微量アルブミン尿のみられる糖尿病性腎症ではアルブミンと同様にそれよりやや分子量のやや小さいプロレニンは糸球体で濾過が亢進しており、近位尿細管でプロレニンとアンジオテンシノーゲンの再吸収が増加していた。そのことが腎組織レニン・アンジオテンシン系の亢進に関与していること示した。この再吸収を抑制すると糖尿病性腎症の進展が抑制され、新たな治療法の開発に繋がる。

研究成果の概要(英文)：Glomerular filtration of prorenin and angiotensinogen were increased as similar to that of albumin in early stage diabetic nephropathy with microalbuminuria, and the increased tubular reabsorption of prorenin and angiotensinogen contributed to the enhanced renal renin-angiotensin system in diabetic nephropathy. Suppression of tubular reabsorption of prorenin can be a new target to prevent progression of diabetic nephropathy.

研究分野：腎臓内科学

科研費の分科・細目：高血圧

キーワード：糖尿病性腎症 レニン・アンジオテンシン系 アルブミン プロレニン

1. 研究開始当初の背景

当研究室ではアルブミンの糸球体濾過および尿細管再吸収を蛍光色素や金コロイドで標識したアルブミンを用いて組織化学的に検討してきた。糖尿病では血中のレニン・アンジオテンシン系 (RAS) は抑制されているが、腎組織ではレニン・アンジオテンシン系が亢進しているとされる。腎組織には mRNA レベルでは RAS 産生系が存在するとされているが、糖尿病における亢進した RAS の由来や機序は十分に解明されていない。プロレニンは分子量 47kD でアルブミン 68kD より小さいが、糸球体濾過係数は 0.001 前後で正常ラットではほとんど濾過されない。しかし、微量アルブミン尿のみられる糖尿病性腎症ではプロレニンは糸球体で濾過され、podocyte や尿細管のプロレニン受容体を介して endocytosis され、腎組織プロレニンの亢進の原因となり得ると仮説を立てた。

2. 研究の目的

微量アルブミン尿を呈する糖尿病性腎症における腎組織レニン・アンジオテンシン系亢進の機序を明らかにする。

尿細管でのエンドサイトーシスを制御することによる糖尿病性腎症の治療法を探る。

3. 研究の方法

ヒトプロレニンおよびヒトアンジオテンシノーゲンを糖尿病ラットに投与し、糸球体および尿細管細胞内における局在とエンドサイトーシスの動態を検討し

4. 研究成果

プロレニンは糖尿病では血中濃度が増加し、分子量が 47kD とアルブミンより小さいが、糸球体濾過係数は 10^{-3} 前後で正常ラットではほとんど濾過されない。しかし、微量アルブミン尿のみられる糖尿病では糸球体で濾過され、podocyte や尿細管のプロレニン受容体を介して endocytosis されたものが、腎組織プロレニンであることを示した。ヒトプロレニンを投与し、抗ヒトプロレニン抗体で免疫

染色、25nm コロイドによる immunogold EM 法を行い、腎 podocyte、尿細管、血管系などに endocytosis されたヒトプロレニンの局在を示した。endocytosis されるプロレニン量が糖尿病ではコントロールに比べ有意に多いことを Western blot で示した。プロレニン受容体は H^+ -ATPase subunit ATP6ap2 と相同性があり、集合尿細管間在細胞、podocyte、近位尿細管など H^+ -ATPase の発現の多い部位でエンドソーム内にプロレニンが取り込まれた。アルブミンのエンドサイトーシスと同様にメガリンがアンジオテンシノーゲンとプロレニンの受容体となっておりプロレニンのエンドサイトーシスはネフロン共通した部位でみられており、微量アルブミン尿が腎組織レニン・アンジオテンシン系の亢進のマーカーになると考えられる。ヒトプロレニンまたはヒトアンジオテンシノーゲンは高価で少量しか投与できず、endocytosis の可視化に難航した。腎動脈よりの局所投与とヒト抗プロレニン抗体による免疫染色と免疫電顕で対処して結果を得た。エンドサイトーシスされたヒトプロレニンとヒトアンジオテンシノーゲンからのアンジオテンシン II の産生は、腎臓全体では総蛋白量が多く希釈され、糖尿病とコントロールで有意な差がみられなかった。しかし、糖尿病ではコントロールに比べ、ヒトプロレニン+ヒトアンジオテンシノーゲン投与後に有意な血圧の上昇がみられ、エンドサイトーシスされたプロレニンとアンジオテンシノーゲンで産生されたアンジオテンシン II が血圧上昇の生理作用を生じ得ることが示された。エンドサイトーシスを抑制することにより尿細管の RAS を抑制するのみならず、腎糖代謝にも関与することが分かり、新たに検討中である。

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9件)

Kinugasa S, Tojo A, Sakai T, Tsumura H, Takahashi M, Hirata Y, Fujita T. Selective albuminuria via podocyte albumin transport in puromycin nephrotic rats is attenuated by an inhibitor of NADPH oxidase. *Kidney Int.* 査読有 80 (12), 2011, 1328–1338.

doi: 10.1038/ki.2011.282.

Tojo A, Kinugasa S. Mechanisms of glomerular albumin filtration and tubular reabsorption. *Int J Nephrol* 査読有 Volume 2012, Article ID 481520, 2012, p1-9 .

doi:10.1155/2012/481520

Miyazaki H, Uozaki H, Tojo A, Hirashima S, Inaga S, Sakuma K, Morishita Y, Fukayama M. Application of low-vacuum scanning electron microscopy for renal biopsy specimens. *Pathol Res Pract.* 査読有 208(9), 2012, 503-9.

doi: 10.1016/j.prp.2012.05.006.

Tojo A, Miyashita K, Kinugasa S, Takemura T, Goto A. Acute Tubulointerstitial Nephritis with an Autoantibody Response Against Carbonic Anhydrase II. *Am J Med Sci.* 査読有, 345(5), 2013, 407-408.

doi: 10.1097/MAJ.0b013e318272f1a6.

Sasaki M, Tojo A, Okochi Y, Miyawaki N, Kamimura D, Yamaguchi A, Murakami M, Okamura Y. Autoimmune disorder phenotypes in HVCN1 gene deficient mice. *Biochem J.* 査読有, 450, 2013, 295-301.

doi: 10.1042/BJ20121188.

Hanamura K, Tojo A, Kinugasa S, Asaba K, Fujita T. The resistive index is a marker of renal function, pathology, prognosis, and responsiveness to steroid therapy in chronic kidney disease patients. *International Journal of Nephrology.* 査読有, Volume

2012, Article ID 139565, 2012, p.1-9.

doi: 10.1155/2012/139565.

Hayashi M, Tojo A, Shimosawa T, Fujita T. The Role of Adrenomedullin in the Renal NADPH Oxidase and (Pro)renin in Diabetic Mice. *J Diabetes Res.* 査読有, vol2013, 3013,134395.

doi: 10.1155/2013/134395.

Hanamura K, Tojo A, Fujita T. Urinary and glomerular podocytes in patients with chronic kidney diseases. *Clin. Exp. Nephrol* 査読有, 18(1):, 2014, 5-103. DOI 10.1007/s10157-013-0814-8

Tojo A. The role of the kidney in protein metabolism: the capacity of tubular lysosomal proteolysis in nephrotic syndrome. *Kidney Int* 査読有 84, 2013, 861-863. Doi:10.1038/ki.2013.284

〔学会発表〕(計11件)

Tojo A, Kinugasa S, Fujita T. Electron microscopic observation of mechanisms of proteinuria in various glomerular diseases. World Congress of Nephrology 2011, April 8-10, 2011, Vancouver, Canada

Kinugasa S, Tojo A, Hirata Y, et al. Increased Renal Uptake of Exogenous Human Prorenin and Angiotensinogen Enhances the Renal Renin-Angiotensin System in Diabetic Rats. The American Society of Nephrology, Kidney Week 2012. Nov. 1-4, 2012, San Diego, USA.

Tojo A, Asaba K. Significance of Foot Process Effacement in Minimal Change Disease with Acute Kidney Injury in Humans and Animal Models. The American Society of Nephrology, Kidney Week 2012. Nov. 1-4, 2012, San Diego, CA, USA.

Tojo A, Kinugasa S. Effect of angiotensin

receptor blockade on sodium-glucose co-transporters and renal gluconeogenesis in diabetic rats. The American Society of Nephrology, Kidney Week 2013, Nov. 7-10, 2013, Atlanta, GA, USA.

Kinugasa S, Asaba K, Nangaku M, Tojo A. The reduction and morphological alterations of podocyte slits cause acute kidney injury in minimal change nephrotic syndrome. The American Society of Nephrology, Kidney Week 2013, Nov. 7-10, 2013, Atlanta, GA, USA.

藤乗嗣泰、林道夫、下澤達雄、藤田敏郎、糖尿病におけるAdrenomedullinのレニン・アンジオテンシン系に及ぼす影響、第34回日本高血圧学会総会 2011年10月20日～22日 栃木

衣笠哲史、藤乗嗣泰、高橋将文、藤田敏郎、Streptozotocin糖尿病モデルにおける腎組織レニン・アンジオテンシンの役割、第55回日本腎臓学会学術総会 2012.6.1-3、横浜

衣笠哲史、藤乗嗣泰、高橋将文、平田恭信、藤田敏郎、Streptozotocin糖尿病ラットにおけるヒトプロレニン・アンジオテシノーゲン投与後の腎内局在と生理作用、第35回日本高血圧学会総会 2012年9月20日～22日 名古屋

藤乗嗣泰、衣笠哲史、渡邊隆史、糖尿病ラットにおけるSGLT2と糖新生、第56回日本腎臓学会学術総会 2013.5.10-12 東京

藤乗嗣泰、衣笠哲史、糖尿病ラットにおけるSGLT2と腎糖新生のアンジオテンシン受容体遮断薬による調節、第45回日本臨床分子形態学会総会、2013年9月13日～14日 福岡

藤乗嗣泰、衣笠哲史、糖尿病におけるSGLT2と腎糖新生とアンジオテンシン受容体遮断薬の効果、第36回日本高血圧

学会総会 2013年10月24日～26日 大阪

〔図書〕(計1件)

Tojo A. Edited by Jindong Chen , InTech, Paraneoplastic glomerulopathy associated with renal cell carcinoma. Chapter 7 in the Renal Tumor. 2013, 208

〔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:なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤乗嗣泰 (TOJO Akihiro)

東京大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号: 50292917

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし