

平成 29 年 6 月 5 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：26461614
 研究課題名(和文) 糸球体RASのペプチドミクス/プロテオミクス解析と小児慢性腎臓病の診断治療法開発

研究課題名(英文) Analyzing glomerular renin angiotensin system with peptidomics for development of therapeutic and diagnostic methods inhibiting disease progression of chronic kidney disease

研究代表者
 香美 祥二 (KAGAMI, Shoji)
 徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・教授

研究者番号：00224337
 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)：本研究は小児慢性腎臓病患者の新しい治療法、診断法を開発するために糸球レニンアンジオテンシン系(RAS)をペプチドミクス解析した。その結果、小児CKD患者ではメサングウム細胞(MC)とポドサイト(POD)におけるACE2依存性のAng II分解系が作動しており、その発現量が腎炎重症度と相関していた。また、CKD患者の尿中ACE2排泄量が腎炎重症度(細胞増殖、タンパク尿)と相関しており新たなCKDの重症度診断のためのバイオマーカーとなりうることを示唆された。

研究成果の概要(英文)：In order to explore the therapeutic and diagnostic methods inhibiting disease progression in pediatric patients with chronic kidney disease(CKD), this study focused on analyzing the glomerular renin angiotensin system related peptides with peptidomics. We found the ACE2-dependent Ang II degradation system in glomerular mesangial cells and podocytes strongly worked in patients with CKD. Additionally, level of urinary ACE2 excretion parallels with the levels of glomerular cell proliferation as well as urinary protein excretion. Therefore, we propose that control of ACE2 expression within glomeruli may offers a new therapeutic method and measurement of urinary ACE2 may be an indicator for evaluating the severity of pediatric patients with CKD.

研究分野：医歯薬学

キーワード：慢性腎臓病 ACE2 レニンアンジオテンシン系 アンジオテンシンII ペプチドミクス解析 糸球体内皮細胞

1. 研究開始当初の背景

現在、腎炎進行に関わる最も確立された障害因子は、レニン・アンジオテンシン系(RAS)活性化により生ずる Ang II であり、今や、临床上、Angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEi)や Ang II type1 receptor (AT1R) blocker (ARB)らのRAS 阻害薬が、小児慢性腎臓病(CKD)患者において蛋白尿減少作用や腎保護効果(糸球体硬化進展抑制)を示すことは周知の事実である。しかしながら、Ang II がどのような腎内RAS 経路で活性化、産生され、どのように代謝されて糸球体局所作用を調整しているのか未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

小児CKDの代表的疾患はIgA腎症であり、メサンギウム細胞(MC)増殖やメサンギウム基質が持続的に増加することがCKD進展の基盤となる。研究の目的は、CKDの進展を左右する腎臓系球体RASの活性化・Angペプチド断片化機構を分子生化学的に網羅的解析(ペプチドミクス/プロテオミクス解析)することにより、現存するRAS阻害薬では得られない糸球体特異的なRAS阻害手段や新規のCKDバイオマーカーを探索し新たな小児CKDの進展阻止戦略を構築することである。

3. 研究の方法

(1) 培養メサンギウム細胞(MC)のRASの活性化・Angペプチド断片化機構をLC-MS/MSにて解析する。

(2) CKD進展時のAngペプチド断片化に関わるpeptidase発現レベルをPCRで確認する。

(3) CKD進展におけるAngペプチド断片化機構に関わるpeptidase発現を組織科学的に解析する。

4. 研究成果

ペプチドミクス/プロテオミクス解析の結果、培養MCにはAngI(1-9)、AngII(1-8)、Ang1-7、Ang2-10、AngIII(2-8)、AngIV(3-8)などの多彩なAngペプチド断片を産生する機能が備わっていることが明らかとなった。糸球体にはACE1、ACE2、AngI(1-10)を分解する酵素、carboxy-peptidaseAなどのpeptidaseが発現しており、Angペプチドを断片化していた。IgA腎症を代表とする慢性・進行性の小児CKD患者では糸球体内皮細胞(GEC)のACE依存性AngII産生系、MCとポドサイト(POD)におけるACE2依存性のAngII分解系が同時に作動しており、その発端は障害GECのアンジオテンシノーゲン発現上昇にあることを見いだした。特に、IgA腎症患者糸球体では、正常糸球体に比しAng1-7、AngIIが増殖部位に蓄積していた。

同時に、蓄積部位にはCarboxypeptidase AとACE2が強く発現していた。今後は、GEC、MC、PODそれぞれの細胞レベルでのRAS活性化機構と糸球体全体としてのRAS制御機構を解析することにより、腎炎進行性病変形成を阻止しうるAngペプチド作用阻害法の開発に取り組む。

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)

Nagai T, Urushihara M, Kinoshita Y, Jamba A, Kondo S, Kagami S: Differential regulation of angiotensin II-induced extracellular regulated kinase-1/2 and -5 in progressive glomerulonephritis. *Nephrology*. 査読有, 2016, 21: 950-958.

Yuzawa Y, Yamamoto R, Takahashi K, Katafuchi R, Tomita M, Fujigaki Y, Kitamura H, Goto M, Yasuda T, Sato M, Urushihara M, Kondo S, Kagami S, Yasuda Y, Komatsu H, Takahara M, Harabuchi Y, Kimura K, Matsuo S: Evidence-based clinical practice guidelines for IgA nephropathy 2014. *Clin Exp Nephrol*. 査読有, 2016, 20: 511-535.

Kato H, Nangaku M, Hataya H, Sawai T, Ashida A, Fujimaru R, Hidaka Y, Kaname S, Maruyama S, Yasuda T, Yoshida Y, Ito S, Hattori M, Miyakawa Y, Fujimura Y, Okada H, Kagami S; Joint Committee for the Revision of Clinical Guides of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in Japan: Clinical guides for atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. *Clin Exp Nephrol*. 査読有, 2016, 58: 549-555.

Suzue M, Urushihara M, Nakagawa R, Saijo T, Kagami S: Urinary angiotensinogen level is increased in preterm neonates. *Clin Exp Nephrol*. 査読有, 2015, 19: 293-297.

Urushihara M, Nagai T, Kinoshita Y, Nishiyama S, Suga K, Ozaki N, Jamba A, Kondo S, Kobori H, Kagami S: Changes in urinary angiotensinogen posttreatment in pediatric IgA nephropathy patients. *Pediatr Nephrol*. 査読有, 2015, 30: 975-982.

Suzue M, Urushihara M, Nakagawa R, Saijo T, Kagami S: Urinary angiotensinogen level is increased in preterm neonates. *Clin Exp Nephrol*. 査読有, 2015, 19: 293-297.

Inoue N, Watanabe H, Okamura K,

Kondo S, Kagami S: Are the equations for the creatinine-based estimated glomerular filtration rate applicable to the evaluation of renal function in Japanese children and adult patients receiving chemotherapy? Clin Exp Nephrol. 査読有,2015,19:298-308.

Ishizawa K, Izawa-Ishizawa Y, Yamano N, Urushihara M, Sakurada T, Imanishi M, Fujii S, Nuno A, Miyamoto L, Kihira Y, Ikeda Y, Kagami S, Kobori H, Tsuchiya K, Tamaki T. Nitrosonifedipine ameliorates the progression of type 2 diabetic nephropathy by exerting antioxidative effects. PLoS One. 査読有, 2014, 9: e86335.

[学会発表](計 21 件)

Urushihara M, Nagai T, Kondo S, Tamaki T, Ikeda Y, Kagami S: (Pro)renin receptor-mediated ERK1/2 and Wnt signaling pathway in crescent glomerulonephritis. Kidney Week 2016. 2016年11月15日-20日, McCormick Place, シカゴ・アメリカ.

寺田知正、漆原真樹、香美祥二: 腎発生における Prorenin, (Pro) Renin receptor の関与についての検討. 第 46 回日本腎臓学会西部学術大会. 2016年10月14日-15日, シーガイアコンベンションセンター, 宮崎県宮崎市.

Kinoshita Y, Fujioka K, Nagai T, Ozaki N, Urushihara M, Kondo S and Kagami S: Transition from MPGN type III to C3 glomerulonephritis in a girl with a prolonged Nephritis-associated plasmin receptor (NAP1r) deposition. 15th Asian Pacific Congress of Nephrology & 52nd Australian and New Zealand Society of Nephrology Annual Scientific Meeting. 2016年9月17-21日, The PCEC, パース・オーストラリア.

漆原真樹、木下ゆき子、近藤秀治、永井隆、藤岡啓介、香美祥二: ラット半月体形成性腎炎モデルにおける(プロ)レニン受容体を介した病態機序と直接レニン阻害薬による治療効果. 第 51 回日本小児腎臓病学会学術集会. 2016年7月7日-9日, ウィンクあいち, 愛知県名古屋市.

Takashi Nagai, Maki Urushihara, Yukiko Kinoshita, Jamba Ariunbold, Shuji Kondo, and Shoji Kagami: Extracellular signal regulated kinase-1/2 and -5 signaling pathways via renin-angiotensin system activation play differential regulatory roles in progressive glomerulonephritis. ERA-EDTA 53rd Congress. 2016年5月21-24日, Austria Center Vienna, ウィーン・オーストリア.

永井隆、漆原真樹、尾崎夏子、木下ゆき子、Ariunbold Jamba, 近藤秀治、香美祥二: 進行性腎炎におけるアンジオテンシンにより活性化された ERK1/2 および ERK5 の役割. 第 119 回日本小児科学会学術集会. 2016年5月13-15日, ロイトン札幌, 北海道札幌市.

永井隆、漆原真樹、木下ゆき子、Ariunbold Jamba, 近藤秀治、香美祥二: 進行性腎炎におけるレニン・アンジオテンシン系活性化と ERK1/2、ERK5 の病態制御機構. 第 50 回日本小児腎臓病学会学術集会. 2015年6月18-20日, 神戸国際会議場, 兵庫県神戸市.

漆原真樹、永井隆、木下ゆき子、Jamba Ariunbold, 近藤秀治、小堀浩幸、香美祥二: 小児 IgA 腎症における尿中アンジオテンシノーゲンと腎内 RAS 活性化および糸球体病変の関係. 第 58 回日本腎臓学会学術総会 2015年6月5-7日, 名古屋国際会議場, 愛知県名古屋市.

Nagai T, Furumoto T, Jamba A, Kinoshita Y, Urushihara M, Kondo S, Kagami S: The case of a 6-year-old boy with systemic lupus erythematosus complicated by membranous lupus nephritis and finger toe necrosis. XII Asian Congress of Pediatric Nephrology. 2014年12月4-6日, Manekshaw Centre, デリー・インド. 本間友佳子、木下ゆき子、永井隆、漆原真樹、近藤秀治、香美祥二: 学校検尿で発見された膜性増殖性糸球体腎炎 III 型の一児例. 第 66 回中国四国小児科学会, 2014年11月22-23日, 高知市文化プラザかるぼーと, 高知県高知市.

Urushihara M, Kondo S, Kobori H, Tamaki T, Kagami S: Urinary angiotensinogen as a specific biomarker of intrarenal renin-angiotensin system status associated with glomerular injury in pediatric IgA nephropathy patients. Kidney Week 2014. 2014年11月11-16日, ペンシルベニアコンベンションセンター, フィラデルフィア・アメリカ.

Terada T, Urushihara M, Kagami S: The prorenin and soluble (pro)renin receptor may be associated with prenatal renal development in humans. Kidney Week 2014. 2014年11月11-16日, ペンシルベニアコンベンションセンター, フィラデルフィア・アメリカ.

Jamba A, Kondo S, Nagai T, Urushihara M, Tamaki T, Kagami S: Hic-5 regulates mesangial cell proliferation via altered and coordinated expression of cell cycle-related protein. Kidney Week 2014. 2014年11月11-16日, ペンシルベニアコンベンションセンター, フィラデルフィア・アメリカ.

永井隆、古本哲朗、木下ゆき子、漆原真樹,

近藤秀治, 香美祥二: 指趾壊死を合併した全身性エリテマトーデスにおいて膜性ループス腎炎を呈した6歳男児例. 第31回中国四国小児腎臓病学会. 2014年11月9日, 倉敷中央病院, 岡山県岡山市.

永井隆, 古本哲朗, 木下ゆき子, 漆原真樹, 近藤秀治, 香美祥二: 指趾壊死を合併した全身性エリテマトーデスにおいて膜性ループス腎炎を呈した6歳男児例. 第44回日本腎臓学会西部学術大会. 2014年10月3-4日, 神戸国際会議場, 兵庫県神戸市.

漆原真樹, 永井隆, Jamba Ariunbold, 近藤秀治, 香美祥二: 小児IgA腎症の病態におけるACE2の役割検討. 第57回日本腎臓学会学術総会. 2014年7月4-6日, パシフィコ横浜, 神奈川県横浜市.

Jamba Ariunbold, 近藤秀治, 漆原真樹, 永井隆, 香美祥二: Hic-5 regulates mesangial cell proliferation in proliferative glomerulonephritis in mice. 第57回日本腎臓学会学術総会. 2014年7月4-6日, パシフィコ横浜, 神奈川県横浜市.

漆原真樹, 永井隆, Jamba Ariunbold, 近藤秀治, 香美祥二: 小児IgA腎症における尿中アンジオテンシノーゲンと腎内RAS活性化および糸球体病変の関係. 第49回日本小児腎臓病学会学術集会. 2014年6月5-7日, 秋田ビューホテル, 秋田県秋田市.

鈴江真史, 漆原真樹, 中川竜二, 西條隆彦, 香美祥二: 早産児における尿中アンジオテンシノーゲン. 第49回日本小児腎臓病学会学術集会. 2014年6月5-7日, 秋田ビューホテル, 秋田県秋田市.

永井隆, 古本哲朗, 木下ゆき子, 漆原真樹, 近藤秀治, 香美祥二: 指趾壊死を合併した全身性エリテマトーデスにおいて膜性ループス腎炎を呈した6歳男児例. 第6回KOCS小児リウマチ研究会. 2014年5月31日, ホテルレオパレス博多, 福岡県福岡市.

- ② Jamba A, Kondo S, Urushihara M, Nagai T, Kim-Kaneyama J, Miyazaki A, Kagami S: The Role of Hic-5 on Mesangial Cell Proliferation in Proliferative Glomerulonephritis in Mice. The 14th Asian Pacific Congress of Nephrology. 2014年5月14-17日, 品川プリンスホテル, 東京都品川区.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

漆原 真樹 (URUSHIHARA, Maki)
徳島大学・病院・講師

研究者番号: 50403689

谷口 寿章 (TANIGUCHI, Hisaaki)
徳島大学・先端酵素学研究所・教授
研究者番号: 10257636