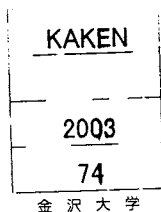


# ケモカイン受容体を介した腎間質線維化機構とその制御

著者	和田 ?志
著者別表示	Wada Takashi
雑誌名	平成15(2003)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2002-2003
ページ	10p.
発行年	2004-05
URL	<a href="http://doi.org/10.24517/00050738">http://doi.org/10.24517/00050738</a>





# ケモカイン受容体を介した 腎間質線維化機構とその制御

課題番号 14571019

平成 14 年度—平成 15 年度

科学研究費補助金基盤(C)(2)研究成果報告書

平成 16 年 5 月

研究代表者 和田 隆志

(金沢大学・医学部附属病院)

金沢大学附属図書館



0400-05044-7

ケモカイン受容体を介した  
腎間質線維化機構とその制御

課題番号 14571019

平成 14 年度—平成 15 年度

科学研究費補助金基盤(C)(2)研究成果報告書

平成 16 年 5 月

研究代表者 和田 隆志

(金沢大学・医学部附属病院)

## は し が き

現在まで腎障害にはたすケモカインおよびその受容体の役割について検討してきた。すでにinterleukin-8 (IL-8)に関しては、臨床病理学的検討 (Kidney Int, 1994), ならびに急性期腎炎モデルにおける抗ケモカイン療法の基礎的検討 (J Exp Med, 1994) を行い, IL-8 の急性期腎炎にはたす役割を明らかにした。さらに monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) について, ヒトループス腎炎, IgA 腎症および現在我国における末期腎不全の第1位の原因となった糖尿病腎症の発症・進展における MCP-1 の関与を臨床病理学的に明らかにした (Kidney Int 1996, 2000)。実際, 同一疾患もしくは同一症例で IL-8, MCP-1 およびマクロファージ, T細胞の走化性因子である macrophage inflammatory protein-1 (MIP-1) を検討し, これらの経時的発現が臨床的に好中球, マクロファージ, T細胞の浸潤, 活性化の時期と一致した (J Leukoc Biol, 1998)。興味深いことにヒト腎疾患において免疫学的ならびに非免疫学的機序の如何を問わず尿中 MCP-1 は腎疾患の進行とともに増加した。組織学的には間質線維化といった病態特異的に深く関与することから, MCP-1 は病因を問わず共通の進展因子であることを報告した (J Leukoc Biol 1998, Kidney Int 2000)。加えて進行性腎炎モデルに対し抗 MCP-1 抗体を投与したところ腎機能保持効果, 腎硬化性病変・間質線維化改善を確認した (FASEB J, 1996)。さらに尿細管間質障害ことに間質線維化は腎疾患の病因を問わず腎予後を規定する重要な因子であることが判明している。以上よりケモカインは腎疾患の発症・進展に重要であり, ことに MCP-1 は診断・病勢判断といった臨床応用に加え, 間質障害抑制から腎疾患進展阻止にむけた重要な治療標的分子となりうることを期待される。一方, MCP-1 の受容体 CCR2 のヒト腎疾患ことに間質線維化における関与ならびに治療標的分子として可能性は目下のところ検討されていない。従ってこれら MCP-1/CCR2 といった機能分子制御による臨床応用を視野に入れ CCR2 を介した腎間質線維化機構の解明とその制御による進展抑制にむけた研究を行った。

### 研究組織

研究代表者：和田 隆志 (金沢大学・医学部附属病院・助手)

交付決定額（配付額）

平成 14 年度	1,800	千円
平成 15 年度	1,700	千円
総計	3,500	千円

研究発表

(1) 学会誌等

Wada T, Matsushima K, Yokoyama H. Chemokines as the therapeutic targets for renal diseases. *Curr Med Chem Anti-Inflammatory & Anti-Allergy* 2:175-190, 2003

Wada T, Yokoyama H, Matsushima K, Kobayashi K. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)- does it play a role in diabetic nephropathy? Editorial comment *Nephrol Dial Transplant* 18: 457-459, 2003

Furuichi K, Wada T, Iwata Y, Kitagawa K, Kobayashi K, Asano M, Wang H, Matsushima K, Takeya M, William A. Kuziel, Mukaida N, Yokoyama H: CCR2 signaling contributes to ischemia-reperfusion injury in kidney. *J Am Soc Nephrol* 14:2503-2515, 2003

Furuichi K, Wada T, Iwata Y, Kitagawa K, Kobayashi K, Tomosugi N, Matsushima K, Egashira K, Yokoyama H. Gene therapy expressing amino-terminal truncated monocyte chemoattractant protein-1 prevents renal ischemia-reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol* 14: 1066-1071, 2003

Wada T, Furuichi K, Sakai N, Iwata Y, Kitagawa K, Ishida Y, Kondo T, Hashimoto H, Ishiwata Y, Mukaida N, Tomosugi N, Matsushima K, Egashira K, and Yokoyama H. Gene therapy via blockade of MCP-1 for renal fibrosis *J Am Soc Nephrol* 15; 940-948, 2004

Kitagawa K, Wada T, Furuichi K, Hashimoto H, Ishiwata Y, Kuziel WA, Matsushima K, Mukaida N, and Yokoyama H. Blockade of CCR2 ameliorates renal fibrosis. *Am J Pathol* in press

Wada T, Razzaque MS, Matsushima K, Taguchi T, Yokoyama H.

Pathological significance of renal expression of proinflammatory molecules

Cellular and molecular basis of fibrogenesis, Razzaque MS (ed), Landes Bioscience, Gergetown, in press

(2) 口頭発表

Invited speaker

Wada T, Sakai N, Furuichi K, Yokoyama H

Up-regulation of monocyte chemoattractant protein-1 in tubulointerstitial lesions of human diabetic nephropathy

The 4th The Japanese-European Nephrology Forum

June 20-22, 2002, Heidelberg, Germany

和田 隆志, 小林 健一, 横山 仁

シンポジウム II-1

ケモカイン

一腎疾患の病態診断と治療への応用一

第42回日本臨床化学会

平成14年10月20日-23日(京都)

Wada T, Yokoyama H, Furuichi K, Iwata Y, Kitagawa K, Egashira K, Matsushima K, Kobayashi K

Gene therapy session SU-FC247 Philadelphia

Therapeutic application of N-terminal deletion mutant of MCP-1 in renal interstitial fibrosis.

35 th American Society of Nephrology Oct 30-Nov 4, 2002. SanDiego

和田 隆志, 北川 清樹, 古市 賢吾, 向田 直史, 松島 綱治, 横山 仁

ワークショップ W7 抗炎症薬開発のための最新研究

W7-5 MCP-1/CCR2 を標的分子とした進行性腎線維化に対する治療戦略

第24回日本炎症・再生医学会  
平成15年11月26-27日(京都)

Kitagawa K, Wada T, Furuichi K, Yokoyama H  
Session I-3 Blockade of CCR2 ameliorates progressive fibrosis in kidney.  
8th Research Forum on Progressive Renal Diseases  
Feb 7, 2004 Nagoya

Invited speaker  
Wada T, Furuichi K, Sakai N, Yokoyama H  
p38 MAPK-chemokine cascade in progressive renal diseases  
5th Japan-Europe Nephrology Forum  
March 3-5, 2004 Hakone

(3) 出版物 (総説)

和田 隆志, 横山 仁. 糸球体腎炎における抗ケモカイン療法の可能性 小児科  
43: 1437-1444, 2002

和田 隆志, 横山 仁. リウマチ性疾患の腎障害におけるケモカインの役割 リ  
ウマチ科 29:184-188, 2003

和田 隆志, 横山 仁.  
腎疾患とサイトカイン・ケモカイン 医学のあゆみ 別冊 腎疾患-state of arts  
2003-2005 pp17-21

古市 賢吾, 横山 仁, 和田 隆志  
腎疾患と炎症 血管医学 4(5):45-52, 2003

和田隆志, 横山 仁  
分子予防環境医学：生命科学研究の予防・環境医学への統合  
各論II 生活習慣病 10. 腎疾患  
pp475-484 2003 本の泉社

和田隆志, 横山 仁, 向田 直史, 松島 綱治

進行性腎線維化にはたす MCP-1-CCR2 の役割と治療戦略への応用  
炎症・再生 in press

和田隆志, 古市 賢吾, 横山 仁

ケモカインと腎線維化—病態への関与と治療戦略の構築—  
臨床と薬物治療 in press

和田隆志, 横山 仁

第3章 成因・病態関連物質 ケモカイン  
『腎臓ナビゲーター』（用語集） in press

和田隆志, 横山 仁

35. CCR2(MCP-1, 3)  
サイトカイン・ケモカイン in press

和田隆志, 横山 仁

腎炎の発症・進展におけるケモカインの役割  
「Annual Review 腎臓 2004」 p60-67, 2004

横山 仁, 和田隆志, 古市賢吾

現代医療「腎疾患の基礎と臨床の新しい展開」  
基礎：腎疾患における細胞性免疫の果たす役割  
現代医療 36; 43-48, 2004

和田隆志, 横山 仁

腎疾患とケモカイン  
Bio Clinica 19; 18-23, 2004

研究成果による工業所有権の出願・取得状況  
特になし



## 研究成果

ヒト進行性腎間質線維化は腎不全に至る、病因を問わない共通の進展機序である。従って腎間質線維化機構を明らかにすることは腎疾患の治療を考える上で極めて重要な意味を持ち、予後の改善に繋がる可能性がある。腎局所へ浸潤した炎症細胞、免疫担当細胞はその活性化および腎固有細胞との相互連関を介して腎疾患の発症・進展に重要な役割をはたす。従ってこれら細胞の浸潤・活性化機構の解明は腎疾患進展機序ならびに治療を考えるうえで重要な意味をもつ。本研究では細胞の遊走・活性化能を有するケモカイン monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)およびその受容体 CCR2 に焦点をあて、ヒト進行性腎間質線維化機構への関与ならびに治療標的分子としての可能性について検討した。以下にその成果を報告する。

1) MCP-1/CCR2 のヒト間質線維化への関与

2) MCP-1/CCR2 の進行性腎間質線維化に対する治療標的分子としての可能性

A) MCP-1 変異体 (7ND) を用いた遺伝子治療の可能性

B) CCR2 欠損マウスならびに CCR2 阻害薬を用いた基礎的検討

### 1) MCP-1/CCR2 のヒト間質線維化への関与

a) 腎線維化に至る腎疾患進展因子ならびに臨床活動性指標としての MCP-1 の意義

培養メサンギウム細胞において C-X-C ケモカインの刺激により MCP-1 に代表される C-C ケモカインが産生されるというカスケードが存在することが報告された。この事実は腎固有細胞を場として急性期から慢性期にいたる炎症の進展過程において、C-X-C から C-C ケモカインへの移行の重要性を示すものと考えられる。臨床的にもケモカイン発現の経時的変化はカスケードを形成していることが観察される(1)。すなわち好中球浸潤を主体とする急性炎症を示す急性腎炎、IgA 腎症の急性増悪時あるいは活動性ループス腎炎ならびに腎移植後の急性拒絶反応時には尿中 IL-8 濃度の上昇がみられる。病理学的には IL-8 は糸球体糸系における管内性増殖ならびに白血球（好中球）浸潤と相関を示す。くわえて細胞性半月体形成あるいは間質内 T(Th1)リンパ球浸潤例では、CCR5 陽性細胞浸潤に対応して一過性に尿中 MIP-1 $\alpha$ が検出される。MCP-1 もこの急性炎症期に腎固有細胞での発現が亢進し、尿中 MCP-1 値は増加する。さらに興味深いことに、MCP-1 はむしろ糸球体病変とくにメサンギウムの硬化性病変や腎線維化が進行し、臨床的にも高度の尿蛋白ならびに腎機能低下を示す症例において経過とともにさらに増加する。このように、腎固有細胞および浸潤細胞から産生されるサイトカイン・ケモカインは、オートクリンもしくはパラクリン分泌機構を介してさらに炎症を増幅し最終的に腎線維化にいたるカスケードを形成するものと考えられる（ケモカインカスケード）(1, 2)。

#### b) MCP-1-CCR2: 腎線維化に至る病因を問わない共通進展因子

MCP-1 はループ腎炎, 半月体形成性腎炎, IgA 腎症ならびに移植拒絶反応といった, その発症・進展に炎症が関与する腎疾患において尿中濃度が上昇し, 尿細管上皮を中心に mRNA ならびに蛋白発現が確認される(1). これまで非免疫機序で進展すると考えられていた糖尿病性腎症において, 少なくとも進行期の尿細管・間質障害に関与することが示された(3, 4). ヒト腎疾患において MCP-1 は主として尿細管ならびに間質浸潤細胞に発現することを免疫組織化学ならびに *in situ* ハイブリダイゼーション法にて確認した. 尿中 MCP-1 値は尿細管萎縮, 間質線維化ならびに浸潤マクロファージと正の相関を示し, 進行性間質病変にはたず MCP-1 の関与が推測された. 一方, CCR2 は主として間質内浸潤細胞に陽性であった. 糖尿病性腎症ならびに膜性腎症例においても, MCP-1/CCR2 陽性細胞の動態ならびに尿中 MCP-1 値と病理学的指標との関連は同様であった. さらに成人発症の一次性ネフローゼ症候群の代表的疾患である膜性腎症において臨床的に進行性であり予後不良な一群がある. かかる例においては, 進展した間質線維化/尿細管萎縮と単球/マクロファージ浸潤が特徴であり, その病態形成に MCP-1-CCR2 が関与する(5). 加えて, 遺伝性腎疾患のうちもっとも頻度が高く緩徐に腎不全に進展する多発性嚢胞腎の進展過程に MCP-1 が関与し, 尿中 MCP-1 値の測定が臨床的に病態を反映することが示された. これらの報告から MCP-1 は腎疾患の急性炎症期に関与するだけでなく, 炎症の遷延化や腎線維化に至る尿細管・間質障害に病態特異的に関与し, MCP-1 が病因を問わない共通の進展因子である可能性が考えられる(1). このことは治療戦略上の標的分子として, さらに臨床検査医学上の重要性を示唆するものである.

#### c) MCP-1-CCR2 と腎障害機序

最近, 蛋白尿は糸球体障害をはじめとする腎障害の結果によって生じるだけでなく, 蛋白尿そのものが腎線維化に至る腎障害増悪因子であることがあきらかとなってきた. これまで MCP-1 や IL-8 は実験腎炎モデルや臨床的に微小変化型ネフローゼ症候群例の増悪期に発現することから蛋白尿との関連が示されていた. この機序に関連して, 培養糸球体上皮細胞ならびに膜性腎症例の糸球体上皮細胞に IL-8 の受容体である CXCR1 はじめ種々のケモカイン受容体が発現していることが報告された. これらのケモカイン受容体にリガンドを作用すると NADPH-oxidase 活性亢進から糸球体上皮細胞の superoxide anion の増加を来した. この上皮細胞障害はケモカインを介した蛋白尿の機序として注目される. 一方, 蛋白尿に含まれるアルブミン, トランスフェリン等で NF- $\kappa$ B 等転写因子を介して尿細管上皮細胞からの MCP-1 が亢進する. 一旦産生された MCP-1 は先述したように尿細管上皮細胞に作用し転写因子(NF- $\kappa$ B, AP-1)を活性化する. したがって, 尿細管・間質において MCP-1 を介した炎症増幅機構が存在

することが示唆される。この遷延する炎症が腎線維化にいたる進展機序に密接に関連していることが推測される。

これまで腎線維化機序と TGF- $\beta$ との密接な関連が指摘されてきた。実験腎炎モデルの検討では、MCP-1 刺激により糸球体細胞由来の TGF- $\beta$ 産生が亢進することが報告された。この事実から MCP-1 と TGF- $\beta$ の相互関連の存在とこの関連を介した線維化機序が示唆される。一方、CCR2 を発現する肺線維芽細胞を用いた検討により MCP-1 刺激に伴う TGF- $\beta$ ならびにプロコラーゲン産生が示された(11)。この実験結果は MCP-1 の線維化にはたす直接的な効果を示したものとして注目される。しかしながら、目下のところ、腎線維芽細胞はじめ腎固有細胞を場とした MCP-1-CCR2 による直接的な線維化機序を示唆するデータに乏しく、今後の展開が期待される。

#### d) まとめ

MCP-1-CCR2 は急性期腎疾患に関与するばかりではなく、腎疾患の病因を問わず、腎線維化に至る病態に深く関与する共通進展因子であることが推測される。

#### 文献

1. Wada T, Matsushima K, Yokoyama H. Chemokines as the therapeutic targets for renal diseases. *Curr Med Chem Anti-Inflammatory & Anti-Allergy*, 2:175-190, 2003.
2. Yokoyama H, Wada T. Chemokines in renal fibrosis and glomerulosclerosis. *Nephrology and Hypertension* 9: 89-96, 2003.
3. Wada T, Yokoyama H, Matsushima K, Kobayashi K. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)- does it play a role in diabetic nephropathy? *Editorial comment Nephrol Dial Transplant* 18: 457-459, 2003.
4. Wada T, Furuichi K, Sakai N, Iwata Y, Yoshimoto K, Shimizu M, Takeda S, Takasawa K, Yoshimura M, Kida H, Kobayashi K, Mukaida N, Naito T, Matsushima K, Yokoyama H. Up-regulation of MCP-1 in tubulointerstitial lesions of human diabetic nephropathy. *Kidney Int* 58: 1492-1498, 2000.
5. Yoshimoto K, Yokoyama H, Wada T, Furuichi K, Sakai N, Iwata Y, Goshima S, Kida H. Pathological findings of initial biopsies reflect the outcomes of membranous nephropathy. *Kidney Int* 65: 148-153, 2004.