

尿中マーカー：

L-FABP (AUC:0.664), MCP-1 (AUC:0.618), AGT (AUC:0.618), CTGF (AUC:0.521), CollagenIV (AUC:0.664) であった。

ロジスティック多変量解析の結果、5種類のバイオマーカーのうち、腎機能低下に関する独立した危険因子は、Angiotensinogen (odd ratio: 4.69, 95%CI: 1.15-19.2, p value: 0.031) 及び Collagen IV (odd ratio: 1.60, 95%CI: 1.07-2.38, p value: 0.023) の2つであった。さらに、年齢・性・クレアチニン・アルブミン尿で補正すると、Collagen IV (odd ratio: 1.72, 95%CI: 1.09-2.72, p value: 0.019) のみが、独立した危険因子として残った。

流路型免疫分析チップ(名古屋大学工学部渡慶次学准教授)を用いた、糖尿病性腎症尿中バイオマーカー開発用の分析プラットフォーム (CCN2, Collagen IV, AGT, MCP-1, L-FABP) の確立に関しては、尿サンプルに最適化した測定条件の検証を続けている。

個別研究：

トランスクリプトーム解析

血液を用いた糖尿病病態診断の試み；BMCの遺伝子パスウェイ発現異常と病態との関連の解析から、糖尿病の重症度マーカーとして JNK 経路を、糖尿病の発症予知マーカーとして OXPHOS 経路を同定した。OXPHOS 経路は糖尿病患者で健常者に比し協調的に発現低下しており、血糖コントロールによっても改善しない。この仮説を追跡コホート研究で検証中である。

また、肝臓における検討では、

1) 肝遺伝子発現が MCR と負に相関し、かつ糖負荷後 120 分血糖値と正に相関したセレノプロテイン P (SeP) を精製した。

2) 型糖尿病モデル動物 KKAy マウス、OLETF ラットでは、肝 SeP 遺伝子、血中 SeP タンパクが上昇していた。

3) 2型糖尿病患者 31 名で血中 SeP 濃度を

測定した結果、血糖値、HbA1c 値と有意な正相関を認めた。

4) C57BL マウスに 1mg/kg の精製 SeP を前投与すると、糖負荷 30 分後の血糖値は約 1.8 倍に上昇し (p=0.001)、腹腔内インスリン負荷後 30 分の血糖降下率は約 10% 減弱した。

5) このマウスの肝と筋でインスリン刺激性 Akt リン酸化は減弱していた。

6) SeP ノックアウトマウスは体重、摂食量、酸素消費量は正常であったが、糖およびインスリン負荷試験では耐糖能、インスリン感受性は良好であった。

7) SeP ノックアウトマウスの肝と筋ではインスリン刺激によるインスリンレセプターのチロシンリン酸化が亢進していた。

8) H4IIEC 肝細胞を SeP タンパク 10 μg/mL で 12 時間前処置すると、1ng/ml のインスリン 15 分刺激による insulin receptor、IRS-2、Akt のリン酸化はそれぞれ約 40% に減少した。このとき培養液中への糖放出は約 30% 増加した。

9) インスリン抵抗性関連既知因子の発現を同細胞で網羅的に検討した結果、SeP 投与細胞では AMPK のリン酸化とその下流の ACC のリン酸化が減弱していた。

10) AMPK の下流で制御される脂肪酸酸化関連遺伝子群 (PPAR-alpha、Cpt-1、Acad1) の発現も減弱した。

11) SeP タンパク投与 H4 肝細胞では、C-14-oleate の C-14-CO₂ へのベータ酸化も低下していた。

12) 精製 SeP タンパク 1 mg/kgBW を C57BL マウスに静脈投与し、6 時間後に肝臓を摘出しタンパク発現を検討したところ、AMPK および ACC のリン酸化は有意に低下していた。

13) Dominant negative alpha AMPK をコードするアデノウイルスを感染させた H4 細胞では、SeP 投与によるインスリン抵抗性誘導作用はほぼ消失した。

14) SeP 投与でも細胞内 AMP、ATP 濃度には変化はなかった。

SeP 投与細胞では、AMPK リン酸化を負に制

御するプロテインフォスファターゼ 2C (PP2C) のタンパク発現が亢進していた。一方、AMPKK である LKB1、CaMKK beta の総タンパク発現量に差はなかった。

エクソゾーム解析

腎生検で確定診断のついた糖尿病性腎症患者の尿より、尿中 exosome を採取し、腎機能低下に強くリンクした候補マーカーの探索を行った。おもに糸球体病変の変化に伴って、いくつかの病態形成分子が、その発現パターンを変えながら進行することが判明してきた。長期にわたるヒトの糖尿病性腎症の病態を正確にとらえる尿中マーカーとして、現在の分類でいう腎症前期～顕性腎症後期のそれぞれにおいて、病態把握に有用な尿中エクソゾームタンパク質群が明らかになりつつある。すでに、糖尿病性腎症のネフローゼ症候群と糖尿病に合併した他の腎疾患によるネフローゼ症候群を明確に区別するマーカーを同定した。ヒト腎生検組織中での尿中マーカー候補分子の発現部位・変化が腎機能低下の進行や、タンパク尿の程度などと相関があるかどうかの検証がさらに必要であり、現在、その解析が進行中である。また、糖尿病モデル動物を元に、病態を反映する尿中マーカー候補分子の同定も行っている。

メタボローム解析

-30°C で冷凍保存していた患者血液サンプルを解凍して、500 μ l を分取し、そこへ内部標準品として L-Methionine sulfone および MES を各々 55 μ M となるように添加した後、5 kDa 以上の分子群をフィルターで除去してから Agilent 社製 CE-MS システムにダイレクトインジェクションして分析した結果、患者尿中の 1 kDa 以下の代謝産物を再現性良く網羅的に一斉測定できた。

さらに、名古屋大学のコホートの患者血液及び尿サンプルを用いて尿中代謝産物の一斉解析に着手し、その第 1 段階として患者血液サンプルのメタボローム解析法

の分析プロトコールの確立を目指した。具体的には、キャピラリー電気泳動-質量分析装置 (CE-MS) を用いて患者血液中の代謝産物の測定を行った。糖尿病性腎症に特異的な 11 個の代謝物を発見した。さらにこの中の 8 代謝物が eGFR とよく相関し、1 代謝物は腎機能の低下とともに減少する新しいタイプのマーカーである。

尿サンプルを用いたメタボローム解析の結果、同定可能な代謝物は、cation: 91 物質、anion: 79 物質、計 170 物質であった。

尿中アルブミンと負の相関を示す 3 代謝物 (cation: 2、anion: 1)、正の相関を示す 1 代謝物 (anion) を同定した。eGFR と負の相関を示す 2 代謝物 (cation)、正の相関を示す 6 代謝物 (cation: 3、anion: 3) を同定した。複数を組み合わせた腎予後推定パネル作成を目指している (特許の関連で詳細は省略)

D. 考察

全体研究

多因子疾患・多臓器疾患の代表的な疾患である糖尿病性腎症の早期診断・予後推測を可能とするためには、多因子性病態形成メカニズムの解明と多因子性病態形成メカニズムの解明が不可欠であり、この二つの特徴 (多因子・多臓器) を踏まえたマルチバイオマーカー診断技術の開発が必要となる。

本分科会の最終目標は、バイオマーカーのソースを尿に絞り込み、既存のマーカーに加え、現在網羅的に検索中のマーカー群から有望な候補を絞り込み、糖尿病性腎症の予防・治療に貢献可能なパネル化モデルの提唱を行うことである。

同時に、この成果を一般臨床に広く応用させるためには、低コスト・ハイスループットなマルチバイオマーカー測定系が必要となるため、この技術開発も合わせて行っていく予定である。

個別研究

トランスクリプトーム解析

血液を用いた糖尿病病態診断の試み；2型糖尿病患者の肝臓では分泌タンパク SeP の産生が亢進しており、この過剰産生が全身のインスリン抵抗性と高血糖を生じさせている可能性がある。最近になって、サプリメントを通じてセレンを過剰に摂取すると糖尿病発症リスクが高まるとする疫学研究が報告され、セレンと糖尿病の関係についても注目されている。

本研究は、肝臓由来ホルモン「ヘパトカイン」が2型糖尿病の病態形成に寄与していること、ヘパトカインが2型糖尿病を代表とするインスリン抵抗性関連疾患の治療標的になりうることを示唆する。

SeP は autocrine, paracrine として肝細胞に作用し、AMPK のリン酸化を減弱させることで肝インスリン抵抗性を誘導する。SeP の AMPK リン酸化減弱作用は主に AMP 非依存性メカニズムを介すると思われるが、その詳細の解明にはさらなる検討を要する。現在、糖尿病腎症モデルをセレノプロテイン P ノックアウトマウスに導入し、表現型を解析中である。

エクソゾーム解析

糖尿病によるポドサイトの障害に関して、どのような障害を受けて脱落に至るかは、ヒトでの検討はあまりなされていなかったが、障害を反映して発現の変化するタンパク質群が徐々に明らかになりつつある。ポドサイト障害の分子機序およびそれをとらえる尿中エクソゾーム蛋白のプロファイルの変化が糖尿病性腎症の病期にあわせ、病変の進行を検出しうるマーカーとして有用であると考えられる。

メタボローム解析

血液サンプルの解析から糖尿病性腎症の各病期に特異的な複数のマーカー群を確認し、糖尿病性腎症の早期診断・予後推測・治療効果予測等を可能とするバイオマーカー検索に有用な手法と考えられる。

尿サンプルにて同様の検討をしており、尿バイオマーカーの候補物質の同定に移行している。

E. 結論

全体研究

本分科会最終目標に合致するバイオマーカーの最終候補を選出し、臨床研究プロトコルを作成の上、臨床研究倫理委員会の承認を受けた。レジストリーを中心に得られた尿サンプルも利用して、これらの最終候補の新規臨床検査診断法としての有用性を評価している。併せて、病期分類改定にむけた検証を行う予定である。

個別研究

トランスクリプトーム解析

血液を用いた糖尿病病態診断の試み；2型糖尿病患者肝臓の包括的発現遺伝子解析から同定した新規ヘパトカイン、セレノプロテイン P は、抗酸化作用を有するにもかかわらず、一部に AMP キナーゼ活性の抑制を介して、全身のインスリン抵抗性を増大する。このことは、過栄養状態で脂肪化した肝臓が、糖尿病の病態に成因として関与する可能性を示唆する。

今後は、SeP 受容体の同定と機能解析、SeP 遺伝子のプロモーター解析から発現制御機構の解明、SeP 産生を制御する薬剤のスクリーニング、迅速血中濃度アッセイ系の確立と臨床的意義の解明等が課題となる。

エクソゾーム解析

糖尿病性腎症における病変の進展、腎機能低下の分子病態の解明に、ポドサイト由来尿中エクソゾームタンパク質を用いた解析は重要である。

メタボローム解析

今後は、尿サンプルにて得られたマーカーの同定・選別並びにバリデーションによりバイオマーカーとしてのパフォーマンスの評価が重要となる。

F. 研究発表

1. 論文発表

【23年度】

Yuzawa Y., Role of hydrogen sulfide in chronic kidney disease and diabetic nephropathy. ,Nihon Yakurigaku Zasshi, 139(1): 17-21, 2012”

Nakamura S, Kawai K, Takeshita Y, Honda M, Takamura T, Kaneko S, Matoba R, Matsubara K., Identification of blood biomarkers of aging by transcript profiling of whole blood.,Biochem Biophys Res Commun., : [Epub ahead of print], 2012

Takeshita Y, Takamura T, Inoue O, Okumura M, Kato K, Sunagozaka H, Arai K, Misu H, Nakamura M, Nakanuma Y, Kaneko S., Slowly progressive insulin-dependent diabetes in a patient with primary biliary cirrhosis with portal hypertension-type progression., Intern Med., 51(1): 79-82, 2012

Sakurai M, Nakamura K, Miura K, Takamura T, Yoshita K, Morikawa Y, Ishizaki M, Kido T, Naruse Y, Suwazono Y, Kaneko S, Sasaki S, Nakagawa H. ., Dietary glycemic index and risk of type 2 diabetes mellitus in middle-aged Japanese men., Metabolism., ;61(1): 47-55, 2012

Watanabe T, Maruyama S, Yamamoto T, Kamo I, Yasuda K, Saka Y, Ozaki T, Yuzawa Y, Matsuo S, Gotoh M., Increased urethral resistance by periurethral injection of low serum cultured adipose-derived mesenchymal stromal cells in rats., Int

J Urol., 18(9): 659-66, 2011”

Doi T, Suzuki D, Uzu T, Yuzawa Y, Kondo M, Kishi S., Peritonitis is still an important factor for withdrawal from peritoneal dialysis therapy in the Tokai area of Japan., Clin Exp Nephrol., 15(5): 727-37, 2011

Sugiyama H, Yokoyama H, Sato H, Saito T, Kohda Y, Nishi S, Tsuruya K, Kiyomoto H, Iida H, Sasaki T, Higuchi M, Hattori M, Oka K, Kagami S, Nagata M, Kawamura T,

Honda M, Fukasawa Y, Fukatsu A, Morozumi K, Yoshikawa N, Yuzawa Y, Matsuo S, Kiyohara Y, Joh K, Taguchi T, Makino H; Committee for Standardization of Renal.,

Pathological Diagnosis and Working Group for Renal Biopsy Database, Japanese Society of Nephrology, Tokyo, Japan. Japan Renal Biopsy Registry: the first nationwide, web-based, and prospective registry system of renal biopsies in Japan. , Clin Exp Nephrol., 15(4): 493-503, 2011”

Mizuno T, Mizuno M, Morgan BP, Noda Y, Yamada K, Okada N, Yuzawa Y, Matsuo S, Ito Y., Specific collaboration between rat membrane complement regulators Crry and CD59 protects peritoneum from damage by autologous complement activation., Nephrol Dial Transplant., 26(6): 821-30, 2011

Kato N, Kosugi T, Sato W, Ishimoto T, Kojima H, Sato Y, Sakamoto K, Maruyama S, Yuzawa Y, Matsuo S, Kadomatsu K., Basigin/CD147 promotes renal fibrosis after unilateral ureteral obstruction., Am J Pathol., 178(2): 572-9, 2011

- Kato K, Kosugi T, Sato W, Arata-Kawai H, Ozaki T, Tsuboi N, Ito I, Tawada H, Yuzawa Y, Matsuo S, Kadomatsu K, Maruyama S., Growth factor Midkine is involved in the pathogenesis of renal injury induced by protein overload containing endotoxin., *Clin Exp Nephrol.*, 15(3): 346-54, 2011
- Kanayama K, Ohashi A, Hasegawa M, Kondo F, Yamamoto Y, Sasaki M, Hayashi H, Kato M, Hattori R, Yamashita H, Arai J, Ishii J, Emi N, Yuzawa Y., Comparison of free light chain removal by four blood purification methods., *Ther Apher Dial.*, 15(4): 394-9, 2011
- Kishi S, Abe H, Akiyama H, Tominaga T, Murakami T, Mima A, Nagai K, Kishi F, Matsuura M, Matsubara T, Iehara N, Ueda O, Fukushima N, Jishage KI, Doi T., Sox9 induces a chondrogenic phenotype of mesangial cells and contributes to advanced diabetic nephropathy., *J Biol Chem.*, 286(37): 32162-9, 2011
- Abe H., Recent progress in understanding the molecular pathogenesis of diabetic nephropathy., *Rinsho Byori.*, 59(2): 179-86, 2011
- Tominaga T, Abe H, Ueda O, Goto C, Nakahara K, Murakami T, Mima A, Nagai K, Araoka T, Kishi S, Fukushima N, Jishage KI, Doi T., Activation of bone morphogenetic protein 4 signaling leads to glomerulosclerosis that mimics diabetic nephropathy., *J Biol Chem.*, 286(22): 20109-16, 2011
- Mima A, Abe H, Nagai K, Arai H, Matsubara T, Araki M, Torikoshi K, Tominaga T, Iehara N, Fukatsu A, Kita T, Doi T., Activation of Src Mediates PDGF-Induced Smad1 Phosphorylation and Contributes to the Progression of Glomerulosclerosis in Glomerulonephritis., *PLoS One.*, 22;6(3): e17929, 2011
- Abe H, Matsubara T, Arai H, Doi T., Role of Smad1 in diabetic nephropathy: Molecular mechanisms and implications as a diagnostic marker., *Histol Histopathol.*, 26(4): 531-541, 2011
- Mima A, Shiota F, Matsubara T, Iehara N, Akagi T, Abe H, Nagai K, Matsuura M, Murakami T, Kishi S, Araoka T, Kishi F, Kondo N, Shigeta R, Yoshikawa K, Kita T, Doi T, Fukatsu A., An autopsy case of mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS) with intestinal bleeding in chronic renal failure., *Ren Fail.*, 33(6): 622-5, 2011
- Murakami T, Nagai K, Matsuura M, Kondo N, Kishi S, Araoka T, Kishi F, Sakiyama T, Mima A, Bando Y, Abe H, Doi T., MPO-ANCA-positive anti-glomerular basement membrane antibody disease successfully treated by plasma exchange and immunosuppressive therapy., *Ren Fail.*, 33(6): 626-31, 2011
- Iwakami S, Misu H, Takeda T, Sugimori M, Matsugo S, Kaneko S, Takamura T., Concentration-dependent dual effects of hydrogen peroxide on insulin signal transduction in H4IIEC hepatocytes., *PLoS One.*, 6(11): e27401, 2011
- Takamura T, Misu H, Kaneko S., [The cutting-edge of medicine; clinical and molecular pathology of type 2 diabetic

liver], Nihon Naika Gakkai
Zasshi, 100(6): 1670-6, 2011

Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, Koike K, Arie S, Imai Y, Shima T, Kanbara Y, Saibara T, Mori T, Kawata S, Uto H, Takami S, Sumida Y, Takamura T, Kawanaka M, Okanoue T; Japan NASH Study Group, Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan., Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma., Clin Gastroenterol Hepatol., 9(5): 428-33, 2011

【22年度】

Mizutani M, Ito Y, Mizuno M, Nishimura H, Suzuki Y, Hattori R, Matsukawa Y, Imai M, Oliver N, Goldschmeding R, Aten J, Krediet RT, Yuzawa Y, Matsuo S., Connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) is increased in peritoneal dialysis patients with high peritoneal solute transport rate., Am J Physiol Renal Physiol., 298(3): F721-33, 2010

Yamada S, Ishii H, Takahashi H, Aoyama T, Morita Y, Kasuga H, Kimura K, Ito Y, Takahashi R, Toriyama T, Yasuda Y, Hayashi M, Kamiya H, Yuzawa Y, Maruyama S, Matsuo S, Matsubara T, Murohara T., Prognostic Value of Reduced Left Ventricular Ejection Fraction at Start of Hemodialysis Therapy on Cardiovascular and All-Cause Mortality in End-Stage Renal Disease Patients., Clin J Am Soc Nephrol., 5(10): 1793-8, 2010

Ito Y, Goldschmeding R, Kasuga H, Claessen N, Nakayama M, Yuzawa Y, Sawai A, Matsuo S, Weening JJ, Aten J., Expression patterns of connective tissue growth factor and of TGF{beta}

isoforms during glomerular injury recapitulate glomerulogenesis., Am J Physiol Renal Physiol., 299(3): F545-F558, 2010

Hasegawa M, Kondo F, Yamamoto K, Murakami K, Tomita M, Nabeshima K, Nakai S, Kato M, Ohashi A, Arai J, Hiki Y, Ishii J, Emi N, Sugiyama S, Yuzawa Y., Evaluation of blood purification and bortezomib plus dexamethasone therapy for the treatment of acute renal failure due to myeloma cast nephropathy., Ther Apher Dial., 14(5): 451-6, 2010

Murakami T, Abe H, Nagai K, Tominaga T, Takamatsu N, Matsubara T, Araoka T, Kishi S, Takahashi T, Mima A, Takai Y, Kopp JB, Doi T., Trophoblast glycoprotein: possible candidate mediating podocyte injuries in glomerulonephritis., Am J Nephrol., 32(6): 505-521, 2010

Araoka T, Abe H, Tominaga T, Mima A, Matsubara T, Murakami T, Kishi S, Nagai K, Doi T., Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) regulates activin receptor-like kinase 1 (ALK1)/Smad1 pathway for development of diabetic nephropathy., Mol Cells., 30(3): 209-218, 2010

Araoka T, Takeoka H, Abe H, Kishi S, Araki M, Nishioka K, Ikeda M, Mazaki T, Ikemura S, Kondo M, Hoshina A, Nagai K, Mima A, Murakami T, Mimura R, Oka K, Saito T, Doi T., Early diagnosis and treatment may prevent the development of complications in an adult patient with glycogen storage disease type Ia., Intern Med., 49(16): 1787-92., 2010

Araoka T, Takeoka H, Nishioka K, Ikeda

- M, Kondo M, Hoshina A, Kishi S, Araki M, Mimura R, Murakami T, Mima A, Nagai K, Abe H, Doi T., Successful management of refractory pleural effusion due to systemic immunoglobulin light chain amyloidosis by vincristine adriamycin dexamethasone chemotherapy: a case report., *J Med Case Reports.*, 4: 322, 2010
- Sawai A, Ito Y, Mizuno M, Suzuki Y, Toda S, Ito I, Hattori R, Matsukawa Y, Gotoh M, Takei Y, Yuzawa Y, Matsuo S., Peritoneal macrophage infiltration is correlated with baseline peritoneal solute transport rate in peritoneal dialysis patients., *Nephrol Dial Transplant.*, 26(7): 2322-32, 2010
- Nagaya H, Inaguma D, Kitagawa A, Murata M, Kamimura Y, Hamaguchi K, Tatematsu M, Suzuki S, Kurata K, Yuzawa Y, Matsuo S., Intravenously administered darbepoetin alfa once a week could maintain hemoglobin level more efficiently than once every 2 weeks in patients on hemodialysis., *Clin Exp Nephrol.*, 14(2): 158-63, 2010
- Sugiura S, Inaguma D, Kitagawa A, Murata M, Kamimura Y, Sendo S, Hamaguchi K, Nagaya H, Tatematsu M, Kurata K, Yuzawa Y, Matsuo S., Administration of alfacalcidol for patients with predialysis chronic kidney disease may reduce cardiovascular disease events., *Clin Exp Nephrol.*, 14(1): 43-50, 2010
- Akahori H, Takeshita Y, Saito R, Kaneko S, Takamura T., Graves' disease associated with infectious mononucleosis due to primary Epstein-Barr virus infection: report of 3 cases., *Intern Med.*, 49(23): 2599-603, 2010
- Misu H, Takamura T, Takayama H, Hayashi H, Matsuzawa-Nagata N, Kurita S, Ishikura K, Ando H, Takeshita Y, Ota T, Sakurai M, Yamashita T, Mizukoshi E, Yamashita T, Honda M, Miyamoto K, Kubota T, Kubota N, Kadowaki T, Kim HJ, Lee IK, Minokoshi Y, Saito Y, Takahashi K, Yamada Y, Takakura N, Kaneko S., A liver-derived secretory protein, selenoprotein P, causes insulin resistance., *Cell Metab.*, 12(5): 483-95., 2010
- Kobayashi D, Takamura M, Murai H, Usui S, Ikeda T, Inomata J, Takashima S, Kato T, Furusho H, Takeshita Y, Ota T, Takamura T, Kaneko S., Effect of pioglitazone on muscle sympathetic nerve activity in type 2 diabetes mellitus with α -glucosidase inhibitor., *Auton Neurosci.*, 158(1-2): 86-91, 2010
- Ando H, Ushijima K, Kumazaki M, Eto T, Takamura T, Irie S, Kaneko S, Fujimura A., Associations of metabolic parameters and ethanol consumption with messenger RNA expression of clock genes in healthy men., *Chronobiol Int.*, 27(1): 194-203, 2010
- Ootsuji H, Honda M, Kaneko S, Usui S, Okajima M, Okada H, Sakai Y, Takamura T, Horimoto K, Takamura M., Altered hepatic gene expression profiles associated with myocardial ischemia., *Circ Cardiovasc Genet.*, 3(1): 68-77, 2010
- Komura T, Sakai Y, Honda M, Takamura T, Matsushima K, Kaneko S., CD14+ monocytes are vulnerable and

functionally impaired under endoplasmic reticulum stress in patients with type 2 diabetes., *Diabetes.*, 59(3): 634-43, 2010

Hamaguchi E, Takamura T, Sakurai M, Mizukoshi E, Zen Y, Takeshita Y, Kurita S, Arai K, Yamashita T, Sasaki M, Nakanuma Y, Kaneko S., Histological course of nonalcoholic fatty liver disease in Japanese patients: tight glycemic control, rather than weight reduction, ameliorates liver fibrosis., *Diabetes Care.*, 33(2): 284-6, 2010

Ando H, Ushijima K, Kumazaki M, Takamura T, Yokota N, Saito T, Irie S, Kaneko S, Fujimura A., Influence of age on clock gene expression in peripheral blood cells of healthy women., *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 65(1):: 41165, 2010

【21年度】

Iwashima S, Ozaki T, Maruyama S, Saka Y, Kobori M, Omae K, Yamaguchi H, Niimi T, Toriyama K, Kamei Y, Torii S, Murohara T, Yuzawa Y, Kitagawa Y, Matsuo S., Novel Culture System of Mesenchymal Stromal Cells from Human Subcutaneous Adipose Tissue., *Stem Cells and Development*, 18(4): 533-543, 2009

Kato N, Yuzawa Y, Kosugi T, Hobo A, Sato W, Miwa Y, Sakamoto K, Matsuo S, Kadomatsu K., The E-selectin ligand basigin/CD147 is responsible for neutrophil recruitment in renal ischemia/reperfusion., *Journal of American Society of Nephrology*, 20(7): 1565-1576, 2009

Kosugi T, Heinig M, Nakayama T, Connor

T, Yuzawa Y, Li Q, Hauswirth WW, Grant MB, Croker BP, Campbell-Thompson M, Zhang L, Atkinson MA, Segal MS, Nakagawa T., Lowering blood pressure blocks mesangiolytic and mesangial nodules, but not tubulointerstitial injury, in diabetic eNOS knockout mice., *American Journal of Pathology*, 174(4): 1221-1229, 2009

Ishikawa H, Ito S, Nishio N, Yuzawa Y, Matsuo S, Isobe K., Injection of bleomycin in newborn mice induces autoimmune sialitis that is transferred by CD4 T cells., *Immunological Cell Biology*, 87(4): 351-358, 2009

Hobo A, Yuzawa Y, Kosugi T, Kato N, Asai N, Sato W, Maruyama S, Ito Y, Kobori H, Ikematsu S, Nishiyama A, Matsuo S, Kadomatsu K., The growth factor midkine regulates the renin-angiotensin system in mice., *Journal of Clinical Investigation*, 119(6): 1616-1625, 2009

Kosugi T, Nakayama T, Heinig M, Zhang L, Yuzawa Y, Sanchez-Lozada LG, Roncal C, Johnson RJ, Nakagawa T., Effect of lowering uric acid on renal disease in the Type 2 diabetic db/db mice., *American Journal of Physiology Renal Physiology.*, 297: F481-488, 2009

Mizuno M, Ito Y, Hepburn N, Mizuno T, Noda Y, Yuzawa Y, Harris CL, Morgan BP, Matsuo S., Zymosan, but not lipopolysaccharide, triggers severe and progressive peritoneal injury accompanied by complement activation in a rat peritonitis model., *Journal of Immunology*, 183: 1403-1412, 2009

Kurata K, Maruyama S, Kato S, Sato W, Yamamoto J, Ozaki T, Nitta A, Nabeshima

- T, Morita Y, Mizuno M, Ito Y, Yuzawa Y, Matsuo S., Tissue-type plasminogen activator deficiency 1 attenuates peritoneal fibrosis in mice., *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 297(6): F1510-1517, 2009
- Ishii H, Toriyama T, Aoyama T, Takahashi H, Amano T, Hayashi M, Tanaka M, Kawamura Y, Yasuda Y, Yuzawa Y, Maruyama S, Matsuo S, Matsubara T, Murohara T., Prognostic values of C-reactive protein levels on clinical outcome after implantation of sirolimus-eluting stents in patients on hemodialysis., *Circ Cardiovasc Interv.*, 2(6): 513-8, 2009
- Takamatsu N, Abe H, Tominaga T, Nakahara K, Ito Y, Okumoto Y, Kim J, Kitakaze M, Doi T., Risk factors for chronic kidney disease in Japan: a community-based study., *BMC Nephrol*, 10: 34, 2009
- Mima A, Toma M, Matsubara T, Shiota F, Iehara N, Abe H, Nagai K, Takahashi T, Matsuura M, Murakami T, Kishi S, Araoka T, Kishi F, Kondo N, Shigeta R, Yoshikawa K, Kimura T, Kita T, Doi T, Fukatsu A., Angio-embolization of renal artery pseudoaneurysm after renal biopsy: a case report., *Ren Fail.*, 31(8): 753-5, 2009
- Ishii H, Kumada Y, Toriyama T, Aoyama T, Takahashi H, Tanaka M, Kamoi D, Kawamura Y, Yamada S, Hayashi M, Yasuda Y, Yuzawa Y, Maruyama S, Matsuo S, Matsubara T, Murohara T., Effects of oral cilostazol 100 mg BID on long-term patency after percutaneous transluminal angioplasty in patients with femoropopliteal disease undergoing hemodialysis: a retrospective chart review in Japanese patients. , *Clin Ther.*, 32(1): 24-33, 2009
- Mizuno T, Mizuno M, Morgan BP, Noda Y, Yamada K, Okada N, Yuzawa Y, Matsuo S, Ito Y., Specific collaboration between rat membrane complement regulators Crry and CD59 protects peritoneum from damage by autologous complement activation., *Nephrol Dial Transplant.*, 26(6): 1821-30, 2009
- Yuzawa Y, Sato W, Masuda T, Hamada Y, Tatematsu M, Yasuda Y, Ozaki T, Ito I, Mizuno M, Maruyama S, Ito Y, Matsuo S., Acute kidney injury presenting a feature of leukemic infiltration during therapy for chronic myelogenous leukemia., *Intern Med.*, 49(12): 1139-42, 2009
- Okada R, Yuzawa Y, Kawamura T, Hamajima N, Watanabe Y, Matsuo S., Incidence of fever of unknown origin and subsequent antitubercular medications in hemodialysis patients: a two-year prospective study., *Ren Fail.*, 31(10): 863-8, 2009
- Kosugi T, Nakayama T, Heinig M, Zhang L, Yuzawa Y, Sanchez-Lozada LG, Roncal C, Johnson RJ, Nakagawa T., Effect of lowering uric acid on renal disease in the type 2 diabetic db/db mice., *Am J Physiol Renal Physiol.*, 297(2): F481-8, 2009
- Hobo A, Yuzawa Y, Kosugi T, Kato N, Asai N, Sato W, Maruyama S, Ito Y, Kobori H, Ikematsu S, Nishiyama A, Matsuo S, Kadomatsu K., The growth factor midkine regulates the renin-angiotensin system in mice., *J Clin Invest.*, 119(6): 1616-25, 2009

Kato N, Yuzawa Y, Kosugi T, Hobo A, Sato W, Miwa Y, Sakamoto K, Matsuo S, Kadomatsu K., The E-selectin ligand basigin/CD147 is responsible for neutrophil recruitment in renal ischemia/reperfusion., *J Am Soc Nephrol.*, 20(7): 1565-76, 2009

Sakamoto I, Ito Y, Mizuno M, Suzuki Y, Sawai A, Tanaka A, Maruyama S, Takei Y, Yuzawa Y, Matsuo S., Lymphatic vessels develop during tubulointerstitial fibrosis., *Kidney Int.*, 75(8): 828-38, 2009

Iwashima S, Ozaki T, Maruyama S, Saka Y, Kobori M, Omae K, Yamaguchi H, Niimi T, Toriyama K, Kamei Y, Torii S, Murohara T, Yuzawa Y, Kitagawa Y, Matsuo S., Novel culture system of mesenchymal stromal cells from human subcutaneous adipose tissue., *Stem Cells Dev.*, 18(4): 533-43., 2009

Kahara T, Takamura T, Otoda T, Ishikura K, Matsushita E. ., Transient anti-GAD antibody positivity and acute pancreatitis with pancreas tail swelling in a patient with susceptible haplotype for type 1 diabetes mellitus., *Intern Med.*, 48(21): 1897-9, 2009

Sakurai M, Takamura T, Miura K, Kaneko S, Nakagawa H., Abnormal liver function tests and metabolic syndrome--is fatty liver related to risks for atherosclerosis beyond obesity?, *Intern Med.*, 48(18): 1573-4, 2009

Ando H, Ushijima K, Yanagihara H, Hayashi Y, Takamura T, Kaneko S,

Fujimura., A. Clock gene expression in the liver and adipose tissues of non-obese type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats., *Clin Exp Hypertens.*, 31(3): 201-7, 2009

Nakamura S, Takamura T, Matsuzawa-Nagata N, Takayama H, Misu H, Noda H, Nabemoto S, Kurita S, Ota T, Ando H, Miyamoto K, Kaneko S., Palmitate induces insulin resistance in H4IIEC3 hepatocytes through reactive oxygen species produced by mitochondria., *J Biol Chem.*, 284(22): 14809-18, 2009

Sakurai M, Takamura T, Miura K, Kaneko S, Nakagawa H., Middle-aged Japanese women are resistant to obesity-related metabolic abnormalities., *Metabolism.*, 58(4): 456-9, 2009

Ando H, Takamura T, Matsuzawa-Nagata N, Shima KR, Nakamura S, Kumazaki M, Kurita S, Misu H, Togawa N, Fukushima T, Fujimura A, Kaneko S., The hepatic circadian clock is preserved in a lipid-induced mouse model of non-alcoholic steatohepatitis., *Biochem Biophys Res Commun.*, 380(3): 684-8, 2009

学会発表

【23年度】

Yukio Yuzawa. (Invited Lecture) Cross-talk between kidney and lung in critical care nephrology, 7th International Congress on Uremia Research and Toxicity(Nagoya). May 12-14, 2011

Yukio Yuzawa. (Invited Lecture) AKI and Midkine, World Congress of Nephrology (Canada), April 8-12, 2011

Kyoko Kanayama, Midori Hasegawa, Yukio Yuzawa. Evaluation of Free Light Chain Removal by Various Blood Purification Methods. 44rd Annual Meeting & Scientific Exposition (Renal Week). Philadelphia (USA). November 8-13, 2011

Midori Hasegawa, Kyoko Kanayama, Yukio Yuzawa. Cardiac Biomarkers in Patients with Chronic Kidney Disease Not on Dialysis. 44rd Annual Meeting & Scientific Exposition (Renal Week). Philadelphia (USA). November 8-13, 2011

Jun-ichiro Yamamoto, Waichi Sato, Tomoki Kosugi, Shoichi Maruyama, Seiichi Matsuo, Yukio Yuzawa. Distribution of Hydrogen Sulfide (H₂S)-Producing Enzymes and the Roles of H₂S in Diabetic Nephropathy. ASN(Philadelphia, PA) November 8-13, 2011

Hibiki Shinjo, Waichi Sato, Tomoki Kosugi, Hiroki Hayashi, Shoichi Maruyama, Enyu Imai, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo. A Comparison of the Acute Kidney Injury Network and Kidney Disease: Improving Global Outcomes Criteria for Acute Kidney Injury in Critically Ill Patients. ASN(Philadelphia, PA) November 8-13, 2011

Sawako Kato, Yoshinari Yasuda, Bengt Lindholm, Peter Stenvinkel, Karin Luttrupp, Tomas J. Ekström, Yukio Yuzawa, Yoshinari Tsuruta, Shoichi Maruyama, Seiichi Matsuo. Impact of Subclinical Bacterial Infection on Epigenetic DNA Methylation in Japanese CKD Stage 5 Patients ASN(Philadelphia,

PA) November 8-13, 2011

Sawako Kato, Bengt Lindholm, Peter Stenvinkel, Karin Luttrupp, Tomas J Ekström, Yukio Yuzawa, Yoshinari Yasuda, Yoshinari Tsuruta, Shoichi Maruyama. Is epigenetic DNA hyper-methylation linked to chronic inflammation in Japanese dialysis patients? Abstract for ISBP(Beijing(北京)), September 9-11, 2011

Hiroshi Kojima, Waichi Sato, Tomoki Kosugi, Yuka Sato, Kayaho Maeda, Shoichi Maruyama, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo. The Growth Factor Midkine Ameliorates Crescentic Glomerulonephritis through Inhibiting Thrombosis ASN(Philadelphia, PA), November 9-11, 2011

Midori Hasegawa, Kyoko Kanayama, Atsushi Ohashi, Yukio Yuzawa. Evaluation of free light chain removal by blood purification., The International Congress on Uremia Research and Toxicity (Nagoya, Japan), November 9-11, 2011

Akiyoshi Hirayama, Masahiro Sugimoto, Eitaro Nakashima, Shoichi Maruyama, Jiro Nakamura, Masaru Tomita, Yukio Yuzawa, Tomoyoshi Soga. Metabolomic profiling using capillary electrophoresis-mass spectrometry differentiates diabetic nephropathy. METABOLOMICS 2011(Australia). June 27-30, 2011

Akiyoshi Hirayama, Eitaro Nakanishi, Masahiro Sugimoto, Shin-ichi Akiyama, Shoichi Maruyama, Jiro Nkamura, Masaru Tomita, Yukio Yuzawa, Tomoyoshi Soga. Metabolomic profiling using capillary electrophoresis-mass spectrometry

differentiates diabetic nephropathy. BMB2011 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会(横浜). 12/13-16, 2011

Shin'ichi Akiyama, Akiyoshi Hirayama, Isao Ito, Seiichi Matsuo, Masaru Tomita, Shoichi Maruyama, Tomoyoshi Soga. CE-MS based time-course metabolic profiling in plasma and dialysate with hemodialysis. The ISURT 2011 7th International Congress on Uremia Research and Toxicity(名古屋). May12-14, 2011

【22 年度】

Yukio Yuzawa, (Invited Lecture) Session 8-3: [Efficacy of blood purification on AKI; Early Detection and Intervention] "Clinical Implication of Biomarkers for Acute Kidney Injury" International Synposium, The 55th annual meeting of Japanese Society of Dialysis Therapy (Kobe, Japan), June 18, 2010

Yukio Yuzawa, (Invited Lecture) Symposium 03 Acute Kidney Injury; Clinical "Biomarkers of AKI" The 12th Asian Pacific Congress of Nephrology (Seoul, Korea), June 6-8, 2010

Yukio Yuzawa, (Invited Lecture) Meet the Professor: 19. Aspects of vascular changes in renal biopsy. ISN-Nexus(Kyoto, Japan), April 15-18, 2010

Yukio Yuzawa, (Invited Lecture) "The growth factor midkine regulates the rennin-angiotensin system in CKD", 4th CKD Forum in Nagoya (Nagoya, Japan), Feb 20, 2010

Kazuhiro Furuhashi, Hideki

Ishikawa, Takenori Ozaki, Yousuke Saka, Takayuki Katsuno, Hansu Kim, Waichi Sato, Naotake Tsuboi, Yasuhiko Ito, Yukio Yuzawa, Ken-ichi Isobe, Enyu Imai, Shoichi Maruyama, Seiichi Matsuo. Adipose-derived stem cells therapy is effective in the treatment of anti-GBM glomerulonephritis. APCN 2010(Korea), June 6-8, 2010

K SHIBATA, S SUZUKI, Y YASUDA, Y YUZAWA, E IMAI, S MATSUO. CAN THE EXAMINATION OF THE OCULAR FUNDUS BE A PREDICTOR OF CHRONIC KIDNEY DISEASE? APCN 2010(Korea), June 6-8, 2010

K KATO, Y YASUDA, K SHIBATA, H TAWADA, E IMAI, Y YUZAWA, S MATSUO. Morphological renal abnormalities by ultrasound among health check subjects:clinical significance of silent renal stone or cyst in chronic kidney disease APCN 2010(Korea), June 6-8, 2010

Yosuke-Saka, Hansu Kim, Kazuhiro Furuhashi, Takayuki Katsuno, Takenori Ozaki, Naotake Tsuboi, Waichi Sato, Enyu Imai, Yukio Yuzawa, Takaaki Kobayashi, Shoichi Maruyama, Seiichi Matsuo. Adipose-derived mesenchymal stem cells suppress antibody production against graft antigens ISN nexus(kyoto, Japan), April 15-18, 2010

Takayuki Katsuno, takenori Ozaki, Tokunori Yamamoto, Yosuke Saka, Kazuhiro Furuhashi, Hansu Kim, Naotake Tsuboi, Waichi Sato, Enyu Imai, Yasuhiko Ito, Yukio Yuzawa, Shoichi Maruyama. Renoprotective effects of human adipose tissue-derived stromal cells cultured in low serum media on acute kidney injury ISN nexus(kyoto, Japan), April 15-18, 2010

Kazuhiro Furuhashi, Hideki
Ishikawa, Takenori Ozaki, Yousuke
Saka, Takayuki Katsuno, Hansu Kim, Waichi
Sato, Naotake Tuboi, Yasuhiko Ito, Yukio
Yuzawa, Ken-ichi Isobe, Enyu
Imai, Shoichi Maruyama, Seiichi Matsuo.
Adipose-derived stem cells therapy is
effective in the treatment of anti-GBM
glomerulonephritis ISN
nexus(kyoto, Japan), April 15-18, 2010

Shoichi Maruyama, Akihiro
Taguchi, Takenori Ozaki, Hideki
Ishii, Ryo Takahashi, Hirotake
Kasuga, Hiroshi Takahashi, Waichi
Sato, Enyu Imai, Yasuhiko Ito, Yukio
Yuzawa, Seiichi Matsuo. Reduced number
of circulating CD34-positive cells is
associated with poor cardiovascular
outcomes in chronic hemodialysis
patients ISN nexus(kyoto, Japan), April
15-18, 2010

Ryo Takahashi, Shoichi
Maruyama, Hirotake Kasuga, Takenori
Ozaki, Takanobu Toriyama, Hiroshi
Takahashi, Waichi Sato, Enyu
Imai, Yasuhiko Ito, Yukio Yuzawa, Seiichi
Matsuo. Malnutrition and chronic
inflammation status at initiating phase
of hemodialysis can stratify the risk of
cardiovascular and all-cause mortality
in CKD stage 5 patients-10-year
follow-up study ISN nexus(kyoto, Japan),
April 15-18, 2010

Kiyonari kato, Yoshinari Yasuda, Kiyoshi
Shibata, Hideo Tawada, Enyu Imai, Yukio
Yuzawa, Seiichi Matsuo. Morphological
renal abnormalities by ultrasound among
health check subjects: clinical
significance of silent renal stone or
cyst in chronic kidney disease ISN

nexus(kyoto, Japan), April 15-18, 2010

Noritoshi Kato, Tomoki Kosugi, Waichi
Sato, Takuji Ishimoto, Shoichi
Maruyama,
Yukio Yuzawa, Kenji Kadomatsu, Seiichi
Matsuo. Basigin/CD147 Promotes Renal
Fibrosis after Unilateral Ureteral
Obstruction 42rd Annual Meeting of The
American Society of
Nephrology(Denver.co), November 16-21,
2010

Akiho Sawai, Yasuhiko Ito, Masashi
Mizuno, Yasuhiro Suzuki, Susumu Toda,
Isao Ito, Waichi Sato, Naotake Tsuboi,
Shoichi Maruyama, Enyu Imai, Yoshifumi
Takei, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo.
Peritoneal Macrophage Infiltration Is
Correlated with Baseline Peritoneal
Solute Transport Rate in Peritoneal
Dialysis Patients 42rd Annual Meeting
of The American Society of
Nephrology(Denver.co), November 16-21,
2010

Maki Shinzawa, Ryohei Yamamoto,
Yasuyuki Nagasawa, Tatsuya Shoji,
Noriyuki Okada, Atsushi Yamauchi,
Yoshiharu Tsubakihara, Enyu Imai,
Hiromi Rakugi, Yoshitaka Isaka. Gene
Polymorphisms Contributing to
Hypertension in IgA Nephropathy 42rd
Annual Meeting of The American Society
of Nephrology(Denver.co),
November 16-21, 2010

Kazuo Takahashi, Hitoshi Suzuki, Archer
D. Smith, Knud Poulsen, Mogens Kilian,
Yukio Yuzawa, Yoshiyuki Hiki, Bruce A.
Julian, Jiri F. Mestecky, Matthew B.
Renfrow, Jan Novak. Identification of
Structural Isomers of IgA1 Hinge-Region
O-Glycopeptides: Implications for

Pathogenesis of IgA Nephropathy (IgAN)
42rd Annual Meeting of The American
Society of Nephrology (Denver. co),
November16-21, 2010

Suzuki Y, Ito Y, Mizuno M, Akiho S,
Kinashi H, Ozaki T, Yasuda Y, Sato W,
Tsuboi N, Maruyama S, Takei Y, Imai E,
Yuzawa Y, Matsuo S. Lymphangiogenesis
develops during tubulo-interstitial
fibrosis in rat unilateral ureteral
obstruction via TGF- β -BEGF-C pathway
The 4 Research Forum on Chronic Kidney
Disease (nagoya), Feb 20, 2010

Yasuhiro Suzuki, Yasuhiko Ito, Masashi
Mizuno, Akiho Sawai, Hiroshi
Kinashi, Waichi Sato, Shoichi
Maruyama, Yoshifumi Takei, Enyu
Imai, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo.
Lymphangiogenesis develop during
tubulo-interstitial fibrosis in rat
unilateral ureteral obstruction via
TGF- β -VEGF-C pathway ISN
nexus (kyoto, Japan), April 15-18, 2010

Kazuhiro Sugiyama, Kazutaka Murakami,
Satoshi Sugiyama, Hiroaki Okada, Yukio
Yuzawa, Naoki Yamamoto. Expression of
vitamin D receptor on peritoneal
macrophages in patients on peritoneal
dialy, ISN-Nexus (Kyoto, Japan), April
15-18, 2010

Midori Hasegawa. Clinical significance
of NT-proBNP, hs-cTnT, and MPO in
chronic kidney disease, ISN-Nexus
(Kyoto, Japan), April 15-18, 2010

平山先生

Akiyoshi Hirayama, Masahiro Sugimoto,
Etaro Nakashima, Shoichi Maruyama, Jiro
Nakamura, Masaru Tomita, Yukio Yuzawa,
Tomoyoshi Soga. CE-MS-based metabolome

profiles differentiate stages of
diabetic nephropathy. METABOLOMICS
2010 (Holland). JUNE 27- JULY 1, 2010

Akiyoshi Hirayama, Masahiro Sugimoto,
Etaro Nakashima, Shoichi Maruyama, Jiro
Nakamura, Masaru Tomita, Yukio Yuzawa,
Tomoyoshi Soga. CE-MS-based metabolome
profiles differentiate stages of
diabetic nephropathy. BMB2010 第33回
日本分子生物学会年会・第83回日本生化学
学会大会合同大会(神戸) 2/16, 2010

【21年度】

湯澤

Akinori Hobo, Yukio Yuzawa, Tomoki
Kosugi, Noritoshi Kato, Waichi Sato,
Shoichi Maruyama, Yasuhiko Ito, Akira
Nishiyama, Kenji Kadomatsu, Seiichi
Matsuo. A novel regulator of the
renin-angiotensin system: the growth
factor midkine. the World Congress of
Nephrology 2009 (Milano), May 23, 2009

Hideaki Ishikawa, Sachiko Ito, Ken-ichi
Isobe, Yukio Yuzawa, and Sei-ichi
Matsuo. Induction of renal fibrosis by
Bleomycin in new murine model of
systemic sclerosis Analysis of the
cellular mechanism of tissue fibrosis
associated with autoimmunity the World
Congress of Nephrology 2009 (Milano),
May 23, 2009

Noritoshi Kato, Akinori Hobo, Tomoki
Kosugi, Waichi Sato, Yukio Yuzawa, Kenji
Kadomatsu, Seiichi Matsuo.
Basigin/CD147 is an E-selectin ligand
on neutrophils and involved in renal
damages induced by
ischemia/reperfusion the World
Congress of Nephrology 2009 (Milano),
May 23, 2009

Yukio Yuzawa. (Invited Lecture) Role of toll-like receptors in immune dysfunction. 27th annual meeting of the International Society of Blood Purification(Stockholm), September 19, 2009

Yukio Yuzawa. (Invited Lecture) In vivo silencing of a target by siRNA in contact hypersensitivity and tumor The 2nd Annual Congress of Regenerative Medicine & Stem Cell at CMBF 2009(China), Aug. 8-10, 2009

Yukio Yuzawa. (Invited Lecture) Cell therapy with adipose tissue derived stem cells for acute kidney injury The 2nd Annual Congress of Regenerative Medicine & Stem Cell at CMBF 2009(China), Aug. 8-10, 2009

Takayuki Katsuno, Shoichi Maruyama, Takenori Ozaki, Tokunori Yamamoto, Yosuke Saka, Kazuhiro Furuhashi, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo, . Renoprotective effect of human adipose tissue-derived stromal cells in acute kidney injury -Comparison between low and high serum cell culture condition- 41rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology(San Diego, California, USA), Oct. 27-Nov. 1, 2009

Hiroshi Nasumoto, Hirotake Kasuga, Takanobu Toriyama, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo. Aortic Valve Calcification and Stenosis Is Strongly Associated with Cardiac and All-Cause Mortality in End-Stage Renal Disease Patients 41rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology(San Diego, California, USA), Oct. 27-Nov. 1, 2009

Kiyonari Kato, Yoshinari Yasuda, Kiyoshi Shibata, Hideo Tawada, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo. Morphological Renal Abnormalities by Ultrasound among Health Check Subjects: Clinical Significance of Silent Renal Stones or Cysts in Chronic Kidney Disease 41rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology(San Diego, California, USA), Oct. 27-Nov. 1, 2009

A Sawai , Y Ito , M Mizuno , Y Suzuki, H Kinashi, I Ito , S Toda, M Watanabe, S Maruyama , Y Yuzawa, S Matsuo. Peritoneal local inflammation is correlated with baseline peritoneal solute transport rate in peritoneal dialysis patients. The 9th European Peritoneal Dialysis meeting (Strasbourg), Oct. 27-Nov. 1, 2009

Yukio Yuzawa. Characteristics and causes of immune dysfunction related to uremia and dialysis The 3rd Forum in Nagoya(Nagoya), May 22-26, 2009

Yukio Yuzawa. Biomarkers as windows into the pathogenesis of AKI: Midkine the World Congress of Nephrology 2009(Milano), May 22-26, 2009

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

急性腎障害及び予後推定用バイオマーカー並びにその用途 発明者：湯澤由紀夫、林宏樹、松尾清一、出願人：国立大学法人名古屋大学

【PCT/JP2009/000863(WO)】 , 2009

ミッドカインを標的とした治療方法： Therapeutic method targeting midkine 発明者：門松健治、松尾清一、湯澤由紀夫、出願人：国立大学法人名古屋大学【US 12/554, 560】 , 2009

2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働省科学研究費補助金（腎疾患対策事業）

総合研究報告書

研究分担者

安部 秀斉 徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 腎臓内科学

研究要旨

糖尿病性腎症における蛋白尿の出現・増加と腎機能低下という病態において、ポドサイトが血行動態の変化、酸化・糖化ストレス、薬剤、加齢などの複合的な原因により、細胞機能低下が進行する。どのような障害を受けてポドサイト脱落に至るかの分子機序は、ヒトではあまり明らかにされていなかったが、腎生検の組織評価と尿中エクソゾームの解析により、その障害の機構が徐々に明らかになりつつある。糖尿病性腎症の病態理解のためには、継続的なマーカーを用いて、その変化を分子レベルで精確に把握することが必須である。さまざまなストレスに対して、ポドサイト中の構成分子・機能分子の発現異常を、非侵襲的かつ簡便に検出するために、尿中エクソゾームの解析をすすめ、ヒト尿サンプルでの評価が可能となってきた。脱落以前のポドサイト障害を早期に検出し、糖尿病性腎症の病態把握を詳細なものにするとともに、治療効果の判定、早期発見、予後予測のために、複数の候補分子を同定し、その測定系が構築中である。

A. 研究目的

糸球体上皮細胞であるポドサイトは高度に機能が分化しており、増殖能を有さないため、種々のストレスを受けると細胞機能が低下し、不可逆的な腎機能低下へ至る。この、ポドサイト内における障害を非侵襲的かつ継続的に評価するマーカーを同定し、ポドサイト障害の分子病態の解析とともに、侵襲性の高い腎生検によらない、診断かつ予後予測に有用なバイオマーカー測定法を樹立する。

B. 研究方法

進行性の腎疾患においては、尿中にポドサイトが脱落することが知られているが、元の腎疾患の診断に用いることはできない。本研究では、病態の明確な動物

モデルおよび実際のヒトの腎生検において確定診断のついたさまざまな腎疾患において尿中エクソゾームタンパクを抽出し、その解析によって、ポドサイト障害の詳細を分子レベルで明らかにし、特に糖尿病性腎症の非侵襲的診断法を開発する。

（倫理面への配慮）

本研究を含めた遺伝子研究計画書「進行性腎障害の遺伝子解析に関する臨床研究」は徳島大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会にて承認されている。また「腎疾患の診断のための研究」は徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会にて承認されている。検体の提供者、その家族・血縁者その他関係者の人権及び利益の保護の取扱いについては十分配

慮し、必要に応じて遺伝相談室にて遺伝カウンセリングを提供する。動物実験については、徳島大学動物実験指針および徳島大学動物実験委員会規則に従い、動物実験計画書は、徳島大学動物実験委員会より承認を受けている。

C. 研究結果

尿中エクソゾーム解析において、まず、重症患者ほど尿タンパクは大量で、多種類であるため、純粋なエクソゾーム分画を得る方法を樹立した。このことで、正常および腎機能低下を伴わないネフローゼではほとんど検出されず、糖尿病性腎症において検出される候補タンパクを複数個同定することができた。腎生検で確定診断のついた糖尿病性腎症患者の尿より、尿中 exosome を採取し、腎機能低下の程度に強くリンクした候補マーカーの探索を行った。十数個の分子がポドサイト由来の exosome 中候補タンパク質として選定されてきた。このうち、全尿を用いての検出が可能なのは、4分子である。これら候補分子は、腎生検で得られた組織における免疫組織学的な解析と照合することで、糸球体内の発現の変化を反映することが明らかとなっている。

D. 考察

糖尿病によるポドサイトの障害は、他の原因によるものと分子機序として異なっていることが、尿中エクソゾーム蛋白のプロファイルの違いにより示唆された。本病態を反映したマーカーは糖尿病性腎症の評価のための非侵襲的バイオマーカーとして有用であると考えられる。糖尿病によるポドサイトの障害に関して、どのような障害を受けて脱落に至るかは、ヒトでの検討はあまりなされていなかった。

たが、代謝異常・血行力学的な異常・炎症など、さまざまなストレスを反映して発現の変化するタンパク質群が明らかになりつつある。ポドサイト障害の分子機序の全容およびそれをとらえる尿中エクソゾーム蛋白のプロファイルの変化が糖尿病性腎症の病期進行を反映しており、病変の進展を検出するマーカーとして有用であると考えられる。

E. 結論

糖尿病性腎症における蛋白尿と腎機能低下の進展における分子病態の解明に、特にポドサイト障害の解析は重要である。糖尿病性腎症では、高血糖・高血圧・脂質異常症・加齢といったさまざまな要因が加わり病変が進展し、腎機能低下が進むため、その分子病態の解明に、ポドサイト障害を反映した尿中エクソゾームタンパク質を用いた解析は重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Role of Smad1 in diabetic nephropathy: Molecular mechanisms and implications as a diagnostic marker.

Abe H, Matsubara T, Arai H, Doi T.

Histol Histopathol. 2011;26(4):531-541.

2. 学会発表

- 1) 第21回 日本老年医学会四国地方会総会
加齢による影響を受けない腎症新規バイオマーカーの探索
芦名茂人、安部秀斉、土井俊夫
- 2) 第55回 日本透析医学会学術集会・総会
新規バイオマーカーとしての尿中エクソゾーム中のCD2APによるCKD患者の予後解析
近藤直樹、安部秀斉、芦名茂人、吉川和寛、岸史、荒岡利和、岸誠司、松浦元一、

富永辰也、村上太一、中村雅将、長井幸
二郎、土井俊夫

- 3) 第 58 回日本臨床検査医学会学術集会
新規バイオマーカーとしての尿中エク
ソゾームによる慢性腎臓病患者の病態
解析
安部尚子、安部秀斉、土井俊夫

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

総合研究報告書

研究分担者

篁 俊成 金沢大学医薬保健研究域医学系恒常性制御学

A. 研究目的

近年、2型糖尿病・肥満症は、生体ストレス・炎症や過栄養、多臓器由来液性因子など多因子が体内において複雑なネットワークを形成して発症することが認識されてきた。なかでも肝臓は、糖・蛋白・脂質代謝の司令塔として、これらの多因子を感じとり、遺伝子発現をダイナミックに変化させることで生体の恒常性を維持している。肥満症、糖尿病、およびそれらの合併症である動脈硬化、癌などの、過栄養が関与する症候群に肝臓の機能破綻とそれに伴うインスリン抵抗性が大きく関与している可能性がある。

本研究では、2型糖尿病および健常人の肝臓に発現する遺伝子の SAGE、DNA chip 解析から新規肝臓由来ホルモンとして、セレノプロテイン P(selenoprotein P; SeP)を同定し、その機能を解析した。

SeP は、主に肝臓からつくられる分泌タンパクであり、ヒトの血液中には SeP が 4~5 $\mu\text{g/mL}$ と大量に存在している。SeP は、必須微量元素であるセレン (Se) を多く含んでおり、セレンを肝臓から全身へと輸送するホルモンであることが報告されてきた。しかしながら、SeP が血糖値やインスリン感受性に及ぼす影響は従来不明であった。本研究により、2型糖尿病患者で血液中の SeP が増えていること、SeP が血糖値を上昇させるホルモンであることが明らかになった。

B. 研究方法

2型糖尿病患者5名と健常者5名の肝臓における発現遺伝子を SAGE 法を用いて包括的に解析し、糖尿病患者で1.5倍以上発現亢進する分泌タンパクコード遺伝子 63種、発現低下する遺伝子 114種を同定した。DNA chip 法を用いてこれらの遺伝子群の肝発現レベルと患者の臨床背景を照合した結果、肝遺伝子発現量が HbA1c と関連する遺伝子 14種、BMI と関連する遺伝子 22種、HOMA-IR と関連する遺伝子 14種、グルコースクランプ法で評価したインスリン感受性指数 MCR と関連する遺伝子 15種を同定した。

（倫理面への配慮）

臨床試験開始にあたっては関連する倫理委員会の審査を受け、指針に従い臨床情報は匿名化し個人情報に十分配慮した。

個人遺伝子情報に関する保護と管理は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づいて行うものとした。試料・データはすべて連結可能匿名化とし、個人識別に関するデータは個人識別情報管理分担者が管理した。データは研究室に設置した専用コンピューターにて一括管理し、データアクセスは研究従事者がパスワードを用いて行った。また、各症例の遺伝子発現情報の管理、情報解析も専用コンピューターに一括して保存し、部外者のアクセスを禁じた。