日腎会誌 2015；57(7)：1200-1205.

特集：腎線維化

腎線維化と内皮細胞障害

Kidney fibrosis and endothelial injury

金崎啓造

Keizo KANASAKI

はじめに

腎臓は心拍出量の約20%の血液を受け取り，その多くの生理学的機能は複雑な腎微小脈管構造とその機能調節のうえに成り立っている。それゆえ，血管（細小血管，糸球体毛細血管，直細動脈，傍尿細管毛細血管など）におけるわずかな障害や病理学的異常が，腎臓の生理学的機能調節の多面的な異常につながると考えられ，結果的に慢性腎臓病，病理学的には腎臓線維化へと進行する可能性がある。血管内皮細胞は血管の内側を覆う1層の細胞であり，血管機能維持に重要な役割を演じる（バリアー機能，血管運動緊張調節，炎症や血栓形成制御）。内皮細胞には多様性があることが知られ，腎臓においても腎糸球体内皮細胞，傍尿細管毛細血管といった高度に機能上分化した内皮細胞が知られる。

“内皮機能障害”という言葉は，臨床の現場でまた基礎研究でも頻繁に用いられるが，一定の定義があるわけではなく，バリアー機能破綻による透過性亢進，血管運動緊張調節機構の破綻，炎症惹起や血栓形成，無秩序な内皮細胞増殖など，さまざまな病理学的変化をもって示されている場合が多い。臨床の現場では，血管運動緊張調節における血管内皮依存的血管拡張やアセチルコリンなどに対する機能的な反応性が評価されている。いまだに確立した内皮障害バイオマーカーは存在しないが，endothelin-1，von Willebrand factor（vWF），一酸化窒素代謝産物，plasminogen activator inhibitor-1, 可溶型 thorombomodulin, 可溶型内皮細胞接着因子（intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion protein 1）などが評価・検討されている。最近では，末梢血液中に存在する循環内皮細胞（circulating endothelial cells：CECs），内皮前駆細胞（endothelial progenitor cell：EPC），細胞由来マイクロパーティクルも内皮機能を評価する新たなマーカーとして用いられている。ただし，それぞれのバイオマーカーがどのような内皮機能障害を意味しているのか，それぞれのバイオマーカーの意義に相違があるのか，明確な記載はなされていない。また，腎臓局所の内皮障害を評価する分子マーカーは確立していない。

以上のように，内皮機能障害が直接血管不全を惹起し，酸素−栄養代謝不全の原因となり，腎機能障害と長期的には線維化の原因となる可能性がある。しかし，内皮機能障害は更なる腎臓の線維化惹起の原因となる可能性が近年考えられている。次に述べる内皮細胞間葉細胞分化（endothelial mesenchymal transition：EndMT）（**図1**）はその一つである。

内皮細胞間葉細胞分化（EndMT）と腎線維化

腎線維化は，炎症・虚血などの組織障害が長期にわたったのち，創傷治癒機構不全の結果惹起される[1]。腎線維化過程において，腎外から侵入した細胞（骨髄由来細胞，炎症細胞など）と線維化惹起刺激下のすべての腎構成細胞との相互作用が，腎臓細胞外基質過剰産生において重要な役割を演じると考えられる。そのなかでも腎線維芽細胞は主要な役割を果たしていると考えられるが，線維芽細胞には機能・由来における多様性が存在すると考えられている。このなかで，EndMTは糖尿病，非糖尿病性腎疾患の線維化において演じる役割に注目が集まっている[2]。

EndMTは心臓発生過程における弁および中隔形成において重要な役割を演じることが知られている，また，心臓や肺，肝臓，角膜，腸管などの線維化や，創傷治癒機構，血管新生および癌転移における意義も報告されてきた。静脈グラフトの内膜肥厚におけるEndMTの寄与も報告され

金沢医科大学糖尿病内分泌内科学
金沢医科大学総合医学研究所先制分子食料科学研究部

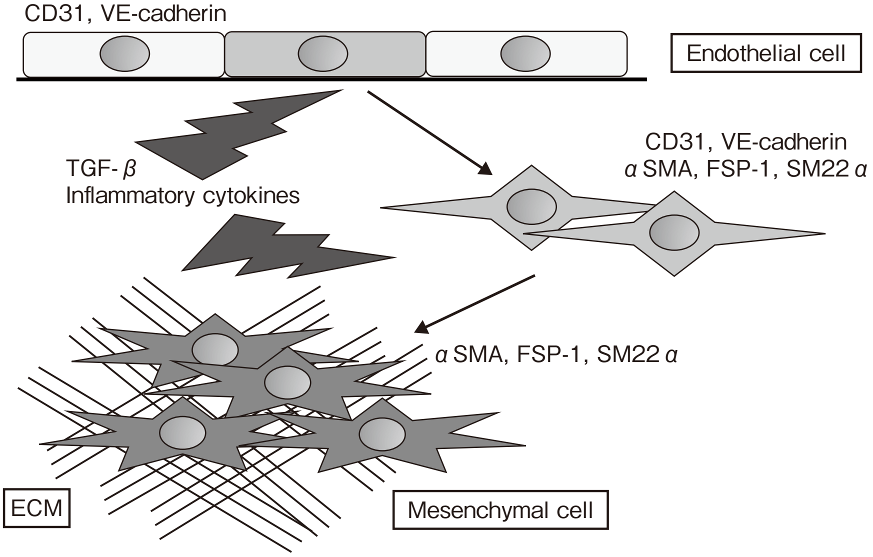

図 1　Endothelial mesenchymal transition（EndMT）
内皮細胞は CD31 や VE-cadherin といった内皮特異的表面マーカーを発現している。TGF-β 刺激や炎症性サイトカインの刺激により，内皮細胞はその内皮細胞としての特徴を失い（CD31 や VE-cadherin の消失），形態も紡錘形へと変化し間葉系マーカー（αSMA，FSP1，SM22α）が発現増加する（EndMT）。EndMT を経た間葉系細胞は ECM の産生に寄与するほか，周囲細胞との相互作用により線維化惹起プログラムを誘導する。

ている[3)]。興味深いことに，小児・乳児血管腫（infantile hemangioma）の自然消退プロセスにおいても EndMT program が関与すると考えられている[4,5)]。腎線維化における EndMT の存在は，Zeisberg らが 3 種の実験腎線維化モデル〔unilateral ureteral obstruction（UUO）モデル，streptozotocin（STZ）誘導糖尿病 CD-1 マウス，type 4 collagen の α3 鎖ノックアウトマウス〕を用いた検討から報告し，腎線維芽細胞の 30 ～ 50% が CD31（内皮細胞マーカー）と fibroblast-specific protein（FSP）-1 もしくは α-smooth muscle actin（αSMA）（間葉系マーカー）の両者を発現していると報告した。彼らは，Tie2-Cre;R26R-stop-EYFP トランスジェニックマウスを用いた系譜トレース解析も行い，UUO 線維化腎において内皮を系譜とする細胞が FSP-1 あるいは αSMA 陽性細胞に分化していることも示した[6)]。同様の系譜トレース解析を用いた EndMT は，STZ 投与 1 カ月後（微量アルブミン尿発症前）のマウス糖尿病腎糸球体においても示された[7)]。LeBlue らは UUO 腎線維化モデルを用いた系譜トレース解析で，Cdh5 陽性系譜細胞が αSMA 陽性細胞の 10% 程度に寄与することを報告した[8)]。このように，多くの腎疾患線維化モデルを用いて EndMT の存在は証明されてきた。また，Xu-Dubois らは 74 移植腎症例を解析し，移植後腎で抗体関連型拒絶反応（ABMR）が発症した症例では，腎内皮細胞において間葉系マーカー（fascin1, vimentin, heat shock protein 47）の発現（EndMT）が有意な増加を認め，ABMR の病理学的特徴（毛細血管炎，糸球体炎，傍尿細管毛細血管における C4d の沈着とドナー特異的抗体の存在）と相関すると報告した[9)]。移植腎における EndMT は，病理学的な ABMR の特徴に比し，腎予後予測因子としても優れていると考えられ，EndMT が ABMR を感度 100%，特異度 85% で診断できた[9)]。これらの結果は，EndMT がヒト腎疾患予後においても病理学的意義を発揮する可能性を示唆している。

EndMT の分子機構と腎線維化における意義

Transforming growth factor（TGF）-β は腎線維化を含めた線維性増殖疾患の病態において中心となる役割を演じるサイトカインであり，EndMT 分子機構においても主要な役割を担うと考えられている。BMP-7 による TGF-β シグナルに対する拮抗[10)]，あるいは TGF-β 中和抗体投与による EndMT 抑制の報告もなされている[3)]。また，内皮細胞における fibroblast growth factor receptor（FGFR）1 シグナルが ALK5 を標的とする microRNA let-7 発現増加に重要であり，結果として FGFR1 活性化が EndMT を抑制することも報告された[11)]。内皮細胞特異的 ALK5 のヘテロ不全マウスでは，腎障害実験モデル（葉酸負荷，UUO）における線維化抑制効果も報告されており，内皮 TGF-β シグナル過剰活性化に

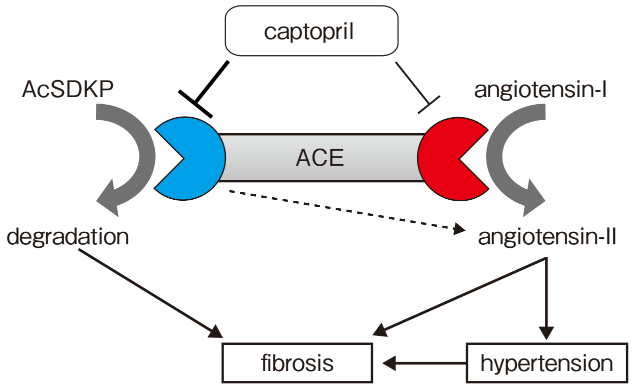

図 2　臓器線維化機構におけるアンジオテンシン変換酵素(ACE)の 2 つの酵素活性部位の意義

ACE の 2 つの酵素活性化部位にはそれぞれ基質選択性がある。アンジオテンシンはほとんどが C 端(図中の赤扇型)において，抗線維化ペプチド N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline(AcSDKP)は N 端(図中の青扇型)のみで代謝される。ブラジキニンは両酵素活性化部位で同等に代謝を受ける(図には示していない)。このように，ACE は臓器線維化機構においてアンジオテンシンを介する高血圧－線維化因子増強と抗線維化分子 AcSDKP の欠乏を介して線維化を惹起する。代表的な ACE-I カプトプリルは N 端に強い親和性を有する。

より誘導される EndMT program が腎線維化に重要な役割を演じることは間違いないと考えられる[12]。

TGF-β の 3 つの isoform(TGF-β1，TGF-β2, および TGF-β3)，その受容体である TGF-β 受容体〔TGF-β 1 型受容体の一つ ALK5 と TGF-β 2 型受容体(TGF-βRII)のヘテロ二量体〕，さらに特異的細胞内シグナル伝達機構 smad 経路もほぼすべての細胞・臓器で発現が認められる。EndMT と分子機構に類似点があると考えられる上皮細胞間葉系分化(epithelial mesenchymal transition：EMT)に関しては，TGF-β の 3 isoform すべてにより刺激されるが，少なくとも発生過程における EndMT に関しては TGF-β2 が中心と考えられる[2]。培養細胞でも，TGF-β2 は EndMT を誘導する。一方，TGF-β1 は EMT を惹起するが，内皮細胞では細胞増殖刺激となる可能性も報告されている。これらの TGF-β1, TGF-β2 間の相違は内皮細胞に存在する TGF-β 3 型受容体(エンドグリン)に対する親和性の違いにあるものと推定されている。TGF-β1 は上皮細胞において，ALK5-TGF-βRII ヘテロ 2 量体に結合することにより smad2/3 活性化を誘導する。しかし内皮細胞では，TGF-β1 はエンドグリンと結合する結果, TGFβ 1 型受容体のうち ALK5 ではなく ALK1 を介した細胞内シグナル，smad1/5/8 を刺激する。ALK1 の活性化により，ALK5 を介した TGF-β による EndMT 誘導刺激伝達機構が抑制され，内皮細胞は増殖する[2]。TGF-β2 は，ALK5 と ALK2 を共に刺激することにより，EndMT 誘導が惹起される[2]。TGF-β2 刺激は ERK, PI3K，および p38MAPK 活性化を惹起し, EndMT に必須である snail 蛋白を増加させるが，snail 単独過剰発現では EndMT 誘導に必要十分ではなく，GSK3β 抑制により snail 過剰発現による EndMT が完成する。このほかにも最終糖化産物(AGE)やアンジオテンシン II も EndMT 誘導に寄与するが，いずれの刺激においても smad3 活性化が必須であると考えられる[2,13]。さらに，smad3 依存性の EndMT 誘導に炎症性サイトカイン(TNF-α や IL-1β)シグナルとの相互作用が必要であるとも考えられている[2]。

糖尿病腎における EndMT とそれを標的とした治療戦略

最近われわれは，腎臓の線維化を特徴とする糖尿病性腎症モデル動物(STZ 投与 CD-1 マウス)を用いて，EndMT 分子機構とそれを標的とした治療戦略に関して報告した。

1. 内因性抗線維化ペプチド N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline(AcSDKP)と EndMT

N-acetyl-seryl- aspartyl-lysyl-proline (AcSDKP)は ACE の基質である。ACE の 2 つの catalytic domain のうち, AcSDKP は N 端の catalytic site においてのみ代謝される(**図 2**)[14]。われわれは AcSDKP が，ヒト腎臓メサンギウム細胞において TGF-β による smad 経路の活性化に対する抑制効果を有することを報告し[15], db/db マウス糸球体病変の改善，メサンギウム細胞増殖抑制効果，半月体形成性糸球体腎炎抑制効果を有することを以前報告した[16～18]。AcSDKP は培養内皮細胞に TGF-β2, TNF-α, IL-1β の複合刺激により生じた EndMT を抑制し，上記 STZ 誘導 1 型糖尿病モデル CD-1 マウスを用いて ACE 阻害薬介入投与下における AcSDKP による相加的抗線維化効果と抗 EndMT 効果を確認した。興味深いことに，糖尿病マウスにおいて，尿中 AcSDKP 濃度が有意に抑制(血中は抑制傾向あり)されており，腎線維化と血中 AcSDKP 濃度は逆相関を認めた[19]。糖尿病腎における EndMT は ACE 阻害薬単独では部分的に，ACE 阻害薬＋AcSDKP ではほぼ完全に抑制したが，コントロールとして用いたアンジオテンシン II 受容体拮抗薬(ARB)は全く抑制しなかった。前述した内因性抗 EndMT 機構，FGFR1, FGFR1 リン酸化および microRNA let-7 は，すべて糖尿病腎で抑制されていたが, AcSDKP はこれらすべての発現を糖尿病腎および培養内皮細胞において共に正常化した。実際，糖尿病 CD-1 マウス腎臓内皮細胞において ALK5 は発現増加しており，ACE 阻害薬単独では部分的に，ACE 阻害薬＋AcS-

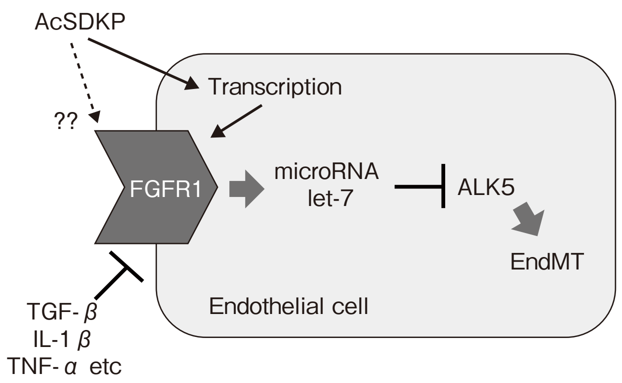

図 3　AcSDKP による抗 EndMT 機構
TGF-β,IL-1β,TNF-α の刺激が加わると，内皮細胞上の FGFR1 発現が抑制される。FGFR1 シグナルは microRNA let-7 発現に重要であり，microRNA let-7 は TGF-βI 型受容体の一つ ALK5 の 3' UTR に結合し，ALK5 発現を抑制する。結果として，TGF-β 刺激伝達機構が抑制されることにより EndMT を抑制する。

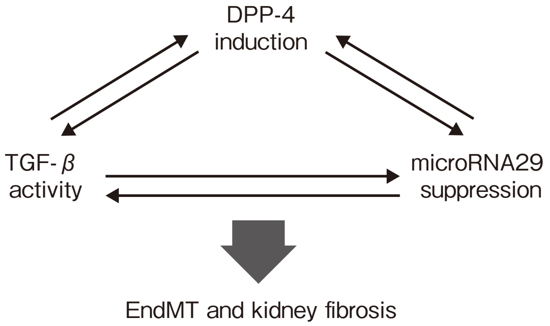

図 4　TGF-β 活性化，microRNA29 抑制，DPP-4 発現増加がもたらす EndMT と腎線維化
腎臓において TGF-β の活性化は microRNA29 抑制と，その結果としての DPP-4 発現増加，酵素活性上昇をもたらす。DPP-4 の過剰発現は TGF-β の活性化と microRNA29 抑制につながる。microRNA29 はコラーゲンなど細胞外基質蛋白の 3`UTR に結合し，それらを抑制することが知られるが，microRNA 29 結合部位は DPP-4 の 3' UTR にも存在し機能的に抑制することをわれわれは証明した。

DKP ではほぼ完全に抑制することが確認できた[19]。これらの結果は，AcSDKP が内皮細胞における FGFR1-microRNA let-7 axis を介した抗 EndMT 機構を正常化/増強することにより抗線維化-抗 EndMT 効果を発揮する可能性を示唆している[20]（**図 3**）。

2. Dipeptidyl peptidase-4，integrin β1 と EndMT

Dipeptidyl peptidase（DPP）-4 はインクレチンホルモン（glucagon-like peptide-1 や glucose-dependent insulinotropic polypeptide）分解酵素として広く知られ，DPP-4 阻害薬はインクレチンホルモン作用増強を目的とした抗糖尿病薬として広く用いられている。最近われわれは，DPP-4 阻害薬 Linagliptin を前述した STZ 誘導 CD-1 マウスに対して介入治療した表現系解析を通じて，DPP-4 が演じる興味深い線維化惹起-EndMT 誘導・異常血管新生における意義を見出した[21]。DPP-4 阻害薬 Linagliptin の介入治療（STZ 投与 20 週から 4 週間）は STZ 誘導 CD-1 マウスにおける尿細管間質線維化，糸球体硬化を抑制した。DPP-4 活性（血清，腎）は糖尿病マウスにおいて有意に増加しており，免疫組織化学解析では DPP-4 蛋白発現の増加を糸球体基底膜，尿細管刷子縁（しかし一部尿細管では発現がきわめて弱い），血管内皮細胞に認め，Linagliptin 介入投与は血清，腎での DPP-4 活性および腎 DPP-4 蛋白発現も抑制した。Linagliptin は糖尿病腎および TGF-β2 誘導 EndMT も抑制し，smad3 リン酸化も抑制した。抗線維化効果を有する microRNA29 は TGF-β/smad 刺激伝達機構活性化に伴い抑制されるが，DPP-4 遺伝子 3'UTR には microRNA29 結合配列が存在し，培養内皮細胞における microRNA29a，b 抑制が直接 DPP-4 蛋白発現増加を誘導し，DPP-4 3'UTR における機能的 microRNA29 結合領域の存在も明らかとすることができた（**図 3**）。実際，糖尿病腎では TGF-β/smad 刺激伝達機構活性化とともに microRNA29a，b，c が低下を認めている。上記結果は，DPP-4 蛋白発現増加，TGF-β 刺激伝達機構活性化，microRNA29 抑制が相互作用し，糖尿病腎における線維化惹起クロストークを形成する可能性を示している[21]（**図 4**）。

Integrin は，細胞−細胞外器質および細胞−細胞間の相互作用に重要な役割を演じる。そのなかでも integrin β1 は，12 種の integrin α とヘテロダイマーを形成することにより，細胞外基質と細胞間の刺激伝達機構制御および恒常性維持に重要な役割を演じることが知られ，TGF-β 刺激伝達機構活性化との関与も報告されている。内皮細胞において VEGFR2 を介して integrin β1 を抑制することにより抗 EndMT 効果を有する[4]。integirn β1 の内皮特異的ノックアウトマウスは胎生 10.5 日で血管新生不全から死亡する[22]。このように，内皮細胞の恒常性維持および EndMT 惹起にも重要と考えられる integrin β1 であるが，DPP-4 と integrin β1 の間に機能的な相互作用の可能性を示唆する報告もなされている。われわれは，前述の STZ 誘導 1 型糖尿病 CD-1 マウス線維化腎において，DPP-4 と integrin β1 が腎内皮細胞において両者とも強発現していることを確認し，Linagliptin による介入は，TGF-β 受容体，DPP-4 および integrin β1 蛋白発現，integrin β1 リン酸化抑制を伴っていることを見出した。培養内皮細胞においても TGF-β2 刺激により DPP-4 と integrin β1 蛋白発現，integrin β1 リン酸化はすべ

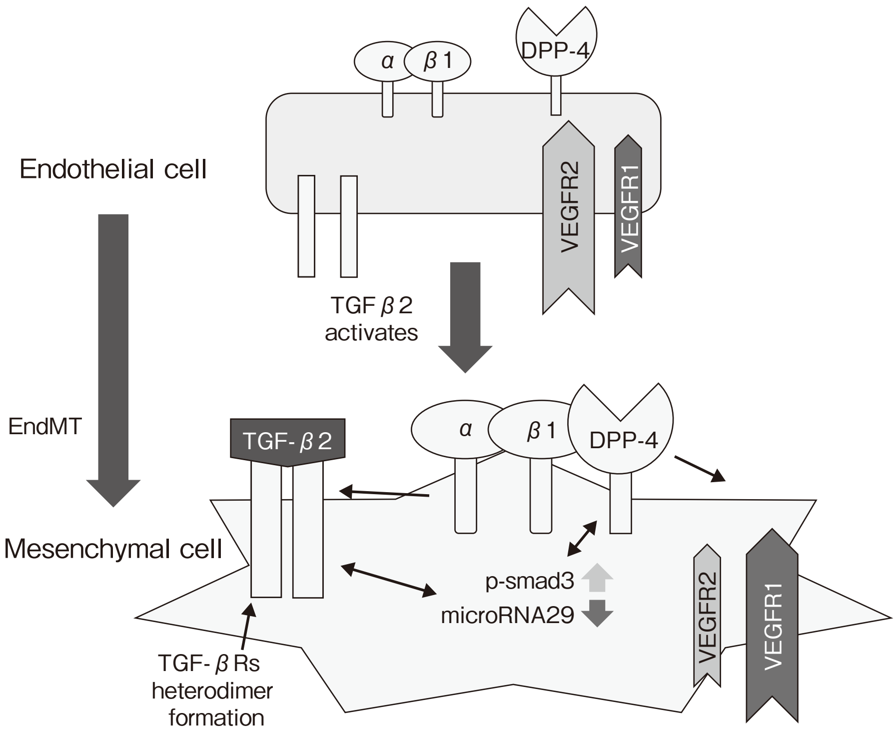

図 5　DPP-4 と integrin β1 相互作用が惹起する EndMT

TGF-β2 刺激により内皮細胞において DPP-4 発現が増加，かつ DPP-4 と integrin β1 の相互作用も誘導される。DPP-4 と integrinβ1 相互作用により，TGF-β 受容体ヘテロ二量体形成を惹起し，血管内皮細胞表面における VEGF 受容体のスイッチ（VEGFR2 抑制と VEGFR1 増加）を誘導し，VEGF による血管新生も抑制する。内皮細胞での DPP-4 過剰発現は血管内皮細胞恒常性を破綻させる。α，β1：それぞれ integrinα, integrinβ1

て増加, Linagliptin 投与によりこれらはすべて抑制された。integrin β1 刺激抗体孵置により DPP-4 蛋白が増加するとともに EndMT も誘導され，一方，siRNA による DPP-4 抑制は integrin β1 蛋白発現，EndMT ともに抑制された。2 つの蛋白の近接相互作用解析では，TGF-β2 刺激により DPP-4 と integrin β1 間の近接相互作用が惹起され，Linagliptin により抑制された。また integrin β1 あるいは DPP-4 siRNA を用いたノックダウンした細胞では，TGF-β2 刺激による TGF-β 受容体ヘテロダイマー形成が抑制されており, TGF-β による I 型と II 型受容体間のヘテロダイマー形成には DPP-4 と integrin β1 の相互作用が必要であることも明らかとなった。さらに DPP-4 と integrin β1 間の相互作用増強は，VEGFR1 の過剰産生を惹起し，VEGF による内皮細胞恒常性維持機構が抑制された。糖尿病腎では VEGFR1 発現増加と VEGFR2 発現減少が確認され，Linagliptin 投与によりこれらが正常化した。このように DPP-4 と integrin β1 間の相互作用は血管内皮細胞恒常性維持のために重要な治療標的であると考えられた[23]（**図 5**）。

おわりに

腎線維化機構における内皮機能障害および EndMT の意義と分子機構に関して概説した。腎線維化過程において腎線維芽細胞は重要な役割を演じるが，果たして EndMT がどの程度数的に寄与するかどうかについてはさまざまな議論があるが，内皮における EndMT program が細胞外基質産生増加のみならず，血管内皮機能を著しく損ねること，結果として酸素や栄養を臓器に届けるという，血管が演じる最も基本的な臓器保護作用が障害されることはほぼ間違いないと考えられる。それゆえ，EndMT program 制御に立脚した治療介入拡充は，糖尿病性腎症を含めそのほかの腎の線維化疾患に対して有効な戦略となりうると考えられる。

利益相反自己申告：日本ベーリンガーインゲルハイム（講演料，研究費・助成金，寄付講座），日本イーライリリー（講演料），アステラス（研究費・助成金，奨学寄付金），日本たばこ（奨学寄付金），ノボノルディスクファーマ（奨学寄付金），小野薬品工業（奨学寄付金，寄付講座），武田薬品工業（奨学寄付金），田辺三菱製薬（奨学寄付金，寄付講座），第一三共（奨学寄付金）

顧問（アドバイザーボード）：Boehringer Ingelheim

文　献

1. Kanasaki K, Taduri G, Koya D. Diabetic nephropathy：the role of inflammation in fibroblast activation and kidney fibrosis. Front Endocrinol（Lausanne）2013；4；7.
2. He J, Xu Y, Koya D, Kanasaki K. Role of the endothelial-to-mesenchymal transition in renal fibrosis of chronic kidney disease. Clin Exp Nephrol 2013；17（4）：488–497.
3. Cooley BC, Nevado J, Mellad J, Yang D, St Hilaire C, Negro A, Fang F, Chen G, San H, Walts AD, Schwartzbeck RL, Taylor B, Lanzer JD, Wragg A, Elagha A, Beltran LE, Berry C, Feil R, Virmani R, Ladich E, Kovacic JC, Boehm M. TGF-β signaling mediates endothelial-to-mesenchymal transition（EndMT）during vein graft remodeling. Sci Transl Med 2014；6：227ra234 .
4. Jinnin M, Medici D, Park L, Limaye N, Liu Y, Boscolo E, Bischoff J, Vikkula M, Boye E, Olsen BR. Suppressed NFAT-dependent VEGFR1 expression and constitutive VEGFR2 signaling in infantile hemangioma. Nat Med 2008；14：1236–1246.
5. Boye E, Olsen BR. Signaling mechanisms in infantile hemangioma. Curr Opin Hematol 2009；16：202–208.
6. Zeisberg EM1, Potenta SE, Sugimoto H, Zeisberg M, Kalluri R. Fibroblasts in kidney fibrosis emerge via endothelial-to-mesenchymal transition. J Am Soc Nephrol 2008；19：2282–2287.
7. Li J, Qu X, Bertram JF. Endothelial-myofibroblast transition contributes to the early development of diabetic renal interstitial fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice. Am J Pathol 2009；175：1380–1388.
8. LeBleu VS, et al. Origin and function of myofibroblasts in kidney fibrosis. Nat Med 2013；19：1047–1053.
9. Xu-Dubois YC, Peltier J, Brocheriou I, Suberbielle-Boissel C, Djamali A, Reese S, Mooney N, Keuylian Z, Lion J, Ouali N, Levy PP, Jouanneau C, Rondeau E, Hertig A. Markers of endothelial-to-mesenchymal transition：evidence for antibody-endothelium interaction during antibody-mediated rejection in kidney recipients. J Am Soc Nephrol 2015 May 20〔Epub ahead of print〕.
10. Zeisberg EM, Potenta S, Xie L, Zeisberg M, Kalluri R. Discovery of endothelial to mesenchymal transition as a source for carcinoma-associated fibroblasts. Cancer Res 2007；67：10123–10128.
11. Chen PY, Qin L, Barnes C, Charisse K, Yi T, Zhang X, Ali R, Medina PP, Yu J, Slack FJ, Anderson DG, Kotelianski V, Wang F, Tellides G, Simons M. FGF regulates TGF-β signaling and endothelial-to-mesenchymal transition via control of let-7 miRNA expression. Cell Rep 2012；2：1684–1696.
12. Xavier S, Vasko R, Matsumoto K, Zullo JA, Chen R, Maizel J, Chander PN, Goligorsky MS. Curtailing endothelial TGF-β signaling is sufficient to reduce endothelial-mesenchymal transition and fibrosis in CKD. J Am Soc Nephrol 2015；26：817–829.
13. Li J, Qu X, Yao J, Caruana G, Ricardo SD, Yamamoto Y, Yamamoto H, Bertram JF. Blockade of endothelial-mesenchymal transition by a Smad3 inhibitor delays the early development of streptozotocin-induced diabetic nephropathy. Diabetes 2010；59：2612–2624.
14. Kanasaki K, Nagai T, Nitta K, Kitada M, Koya D. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline：a valuable endogenous anti-fibrotic peptide for combating kidney fibrosis in diabetes. Front Pharmacol 2014：5：70.
15. Kanasaki K, Koya D, Sugimoto T, Isono M, Kashiwagi A, Haneda M. N-Acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline inhibits TGF-β-mediated plasminogen activator inhibitor-1 expression via inhibition of Smad pathway in human mesangial cells. J Am Soc Nephrol 2003；14：863–872.
16. Kanasaki K, Haneda M, Sugimoto T, Shibuya K, Isono M, Isshiki K, Araki S, Uzu T, Kashiwagi A, Koya D. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline inhibits DNA synthesis in human mesangial cells via up-regulation of cell cycle modulators. Biochem Biophys Res Commun 2006；342：758–765.
17. Omata M, Taniguchi H, Koya D, Kanasaki K, Sho R, Kato Y, Kojima R, Haneda M, Inomata N. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline ameliorates the progression of renal dysfunction and fibrosis in WKY rats with established anti-glomerular basement membrane nephritis. J Am Soc Nephrol 2006；17：674–685.
18. Shibuya K, Kanasaki K, Isono M, Sato H, Omata M, Sugimoto T, Araki S, Isshiki K, Kashiwagi A, Haneda M, Koya D. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline prevents renal insufficiency and mesangial matrix expansion in diabetic db/db mice. Diabetes 2005；54：838–845.
19. Nagai T, Kanasaki M, Srivastava SP, Nakamura Y, Ishigaki Y, Kitada M, Shi S, Kanasaki K, Koya D. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline inhibits diabetes-associated kidney fibrosis and endothelial-mesenchymal transition. Biomed Res Int 2014：696475. Epub 2014 Mar 24.
20. Nagai T, Nitta K, Kanasaki M, Koya D, Kanasaki K. The biological significance of angiotensin-converting enzyme inhibition to combat kidney fibrosis. Clin Exp Nephrol 2015：19（1）：65–74.
21. Kanasaki K, Shi S, Kanasaki M, He J, Nagai T, Nakamura Y, Ishigaki Y, Kitada M, Srivastava SP, Koya D. Linagliptin-mediated DPP-4 inhibition ameliorates kidney fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice by inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition in a therapeutic regimen. Diabetes 2014；63：2120–2131.
22. Tanjore H, Zeisberg EM, Gerami-Naini B, Kalluri R. Beta1 integrin expression on endothelial cells is required for angiogenesis but not for vasculogenesis. Dev Dyn 2008；237：75–82.
23. Shi S, Srivastava SP, Kanasaki M, He J, Kitada M, Nagai T, Nitta K, Takagi S, Kanasaki K, Koya D. Interactions of DPP-4 and integrin β1 influences endothelial-to-mesenchymal transition. Kidney Int 2015；88（3）：479–489.