

氏名	まきのひさし 榎野久士
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	論医博第1915号
学位授与の日付	平成18年11月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Role of Protective Factors in the Progression of Experimental Diabetic Nephropathy (実験的糖尿病性腎症の発症・進展抑制因子に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 稲垣暢也 教授 真鍋俊明 教授 小泉昭夫

### 論文内容の要旨

糖尿病性腎症は慢性腎不全の主たる原因疾患であり、その病態解明と克服は極めて重要な課題である。糖尿病性腎症の発症・進展には種々の液性因子の関与が示唆されるが、その詳細については不明な点が多い。

プロスタノイドは5種類のリガンドが8種類の受容体を介し多彩な作用を発揮する。特にプロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) は EP<sub>1</sub>~EP<sub>4</sub> の4種類の受容体に働き腎微小循環・尿管機能調節などに作用する。糖尿病では腎での PGE<sub>2</sub> 産生亢進が生じ、病態への関与が示唆される。既に培養メサンギウム細胞を用いて、EP<sub>1</sub> は増殖促進に、EP<sub>4</sub> は抑制に働くこと、高濃度ブドウ糖下での細胞増殖亢進は EP<sub>1</sub> 拮抗薬にて阻害されることを示した。一方、Na 利尿ペプチドは心臓や血管内皮から産生される強力な降圧利尿ホルモンであり、心房性 Na 利尿ペプチド (ANP)、脳性 Na 利尿ペプチド (BNP)、C 型 Na 利尿ペプチド (CNP) から成る。これまで心不全や高血圧での代償的・臓器保護的意義が示されてきたが、糖尿病性腎症では進展に重要とされる糸球体過剰濾過における病因的意義が示唆されてきた。本研究では、糖尿病性腎症の発症・進展における PGE<sub>2</sub> 及び Na 利尿ペプチドの意義について動物モデルを用いて検討を行った。

Wistar ラットにストレプトゾトシン (STZ) 糖尿病を発症させ、EP<sub>1</sub> 拮抗薬 (ONO-8713) 投与群、非選択的 PG 合成阻害薬のアスピリン投与群、対照群の3群で経時的に血糖、血圧、尿蛋白を測定した。4週、12週後に腎組織像及び単離糸球体での遺伝子発現を解析し、培養メサンギウム細胞を用いて機序を検討した。糖尿病誘発後、3群間で血糖・血圧に差を認めなかった。対照群では蛋白尿増加とともに糸球体腫大・メサンギウム基質増加を認めたが、EP<sub>1</sub> 拮抗薬投与群では尿蛋白はほぼ完全に抑制され、腎組織変化も軽微であった。腎症進展に重要な transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 及び fibronectin の発現亢進も著しく減弱した。一方、アスピリン投与群では TGF- $\beta$  発現と基質増加は抑制されたが、糸球体腫大と尿蛋白は改善しなかった。高濃度ブドウ糖下培養メサンギウム細胞では TGF- $\beta$  発現亢進を認め、EP<sub>1</sub> 拮抗薬により完全に抑制された。さらに PG 合成酵素 COX-2 の発現亢進は、EP<sub>1</sub> 拮抗薬にて部分的に抑制された。以上より、糖尿病性腎症では PGE<sub>2</sub>-EP<sub>1</sub> の亢進が発症・進展に関与すること、選択的 EP<sub>1</sub> 阻害が進展抑制に重要であることが示された。さらに、糖尿病性腎症では COX-2/PGE<sub>2</sub>/EP<sub>1</sub>/COX-2 の vicious cycle が腎障害を悪化させる可能性が示唆された。

次に、BNP を肝臓から過剰分泌する BNP 過剰発現マウス (BNP-Tg) 及び対照の C57BL/6J マウスを用いて STZ 糖尿病モデルを作製し、経時的に血糖、血圧、尿アルブミンを測定するとともに、16週後に腎組織像、遺伝子発現を解析した。さらに培養メサンギウム細胞を用いて BNP の効果を検討した。BNP-Tg 糖尿病群において、メサンギウム増生・糸球体腫大及び蛋白尿増加は対照に比し明らかに軽度であり、腎機能も正常に維持された。糸球体での TGF- $\beta$ 、fibronectin 発現及び ERK/MAP キナーゼ活性亢進も BNP-Tg で低下を認めた。高濃度ブドウ糖下培養メサンギウム細胞におけるこれらの亢進は、BNP 添加で顕著に抑制された。一方、BNP-Tg と同程度の血圧低下を示すヒドララジン投与群では腎障害の改善を認めず、BNP の腎保護作用は主に降圧を介さない効果と考えられた。

本研究により、実験的糖尿病性腎症の発症・進展における増悪因子としての PGE<sub>2</sub>-EP<sub>1</sub> 系、防御因子としての Na 利尿ペプチド系の関与が示され、これらの系を標的とした糖尿病性腎症に対する新しい治療への応用の可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

糖尿病性腎症の病態には種々の液性因子の関与が示唆されるが、その詳細については不明である。本研究で申請者は、糖尿病性腎症の発症・進展におけるプロスタノイド系及びNa利尿ペプチド系の意義について、動物モデルを用いて検討を行った。

ストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルラットでは、蛋白尿増加とともに糸球体腫大・メサンギウム基質増加を認めたのに対し、PGE<sub>2</sub>受容体のひとつであるEP<sub>1</sub>の拮抗薬慢性投与群では尿蛋白はほぼ完全に抑制され、腎組織変化も軽微であった。メサンギウムでの細胞外基質関連遺伝子発現も著しく抑制された。一方、非特異的プロスタノイド合成阻害薬のアスピリン投与群では、改善は部分的であった。Na利尿ペプチド系の役割の検討については、脳性Na利尿ペプチド過剰発現マウスを用いて同様に糖尿病性腎症モデルを作製し検討すると、メサンギウム増生及び蛋白尿増加は対照に比し明らかに軽度であり、糸球体での細胞外基質産生も抑制された。これらの作用機序は、主にメサンギウムをはじめとする糸球体局所での作用と考えられた。本研究により、糖尿病性腎症の発症・進展における増悪因子としてのPGE<sub>2</sub>-EP<sub>1</sub>系、防御因子としてのNa利尿ペプチド系の関与が示唆された。

以上の研究は、糖尿病性腎症の発症・進展の機序解明に貢献し、新たな治療法の開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成18年10月25日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。