

京都大学	博士 (薬学)	氏名	中川 俊作
論文題目	腎尿細管病変の増悪と修復におけるmTOR経路の役割に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>腎臓は、体液の恒常性維持を担う中心的な臓器であり、その最小機能単位であるネフロンは糸球体とそれに続く尿細管分節から構成される。中でも近位尿細管上皮細胞には様々なトランスポーターが発現し、栄養物質の再吸収や薬物・異物の解毒を担っている。一方、腎障害に伴うこれら尿細管機能の低下は尿毒症物質や生体異物の蓄積を惹起し、腎病変の増悪や合併症の危険性を高める。従って、尿細管病変の進展に関わる分子機構の解明は、高精度な腎機能評価法の確立および治療法の開発に有用であると考えられる。そこで著者は、慢性腎臓病患者を対象として腎機能低下時における遺伝子発現変化を網羅的に調べた。さらに、慢性腎不全、シスプラチン腎症、および腎虚血再灌流障害のモデル動物を用いて、尿細管上皮細胞におけるmTOR経路の役割に着目した系統的な解析を行い、以下の新知見を得た。</p>			
<p>I. 慢性腎臓病患者の腎生検組織における遺伝子発現解析と疾病関連因子の探索</p> <p>京都大学において腎生検を施行された慢性腎臓病患者のうち、書面による同意が得られた48名を対象に腎生検組織より抽出したtotal RNAを用いてマイクロアレイ解析を行った。同時に、市販の健常人由来の腎total RNAを対照とし、慢性腎臓病において高発現する遺伝子群を抽出した。その結果、Cyclin B2を含む細胞周期関連遺伝子群の発現変化が顕著であることを見出した。このように、慢性腎臓病患者における腎病変の特徴を分子的側面から明らかにすることができた。</p>			
<p>II. 慢性腎不全時の近位尿細管におけるmTOR経路の役割</p> <p>著者の所属する研究室では、慢性腎不全のモデル動物である5/6腎摘出 (Nx) ラットを用いた解析から、mammalian target of rapamycin (mTOR) が近位尿細管における細胞周期の活性化に関与することを明らかにしてきた。そこで、Nx処置後2および8週間目のラットに対するmTOR阻害薬エベロリムス処置の効果を調べた。その結果、Nx処置後2および8週間目の近位尿細管上皮細胞において、mTOR経路が著名に活性化すること、およびエベロリムス処置によりmTOR活性化を抑制し得ることを見出した。特に、腎間質の線維化が顕著となるNx処置後8週間目からエベロリムスを処置した場合には、間質線維化およびアルブミン尿の抑制が観察された。また、エベロリムス処置により近位尿細管における蛍光標識アルブミンの再吸収能やトランスポータータンパク質発現量の回復が認められた。従って、末期腎不全時の近位尿細管におけるmTOR経</p>			

路の活性化は、物質輸送という尿細管機能の低下をもたらすことが示された。

III. 近位尿細管上皮細胞のオートファジーに及ぼすmTOR活性化の影響

Nx処置に加えて、尿細管障害のモデル動物としてシスプラチン投与または腎虚血再灌流処置を施したラットを実験に供した。腎臓におけるオートファジーの活性をリン脂質結合型microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3-II) 発現量で評価したところ、Nx処置後の腎臓におけるmTOR活性化はオートファジーの抑制につながることが示された。シスプラチンおよび虚血再灌流処置後の腎臓においてもmTORの活性化とオートファジーの抑制が認められた。次に、エベロリムスの前処理に引き続きシスプラチン投与または虚血再灌流処置を行ったところ、腎臓中のオートファジー活性は保持されたものの、個体レベルの腎機能は著しく低下した。このことから、代償性腎不全期や急性腎障害からの回復過程において、mTORはオートファジーを制御することで尿細管上皮細胞の機能維持または修復に寄与することが示唆された。

以上、著者は腎近位尿細管におけるmTOR経路の役割に着目した解析を行うことにより、腎障害時における尿細管病変の進展と修復に関わる分子機構を一部明らかにした。本研究成果は、腎病変進展の分子機構を考慮した個別化薬物治療の実現に向けて有用な基礎的知見になると考える。

(論文審査の結果の要旨)

腎臓は、体液の恒常性維持を担う中心的な臓器であり、その最小機能単位であるネフロンは糸球体とそれに続く尿細管分節から構成される。中でも近位尿細管上皮細胞には様々なトランスポーターが発現し、栄養物質の再吸収や薬物・異物の解毒を担っている。一方、腎障害に伴うこれら尿細管機能の低下は尿毒症物質や生体異物の蓄積を惹起し、腎病変の増悪や合併症の危険性を高める。従って、尿細管病変の進展に関わる分子機構の解明は、高精度な腎機能評価法の確立および治療法の開発に有用であると考えられる。そこで著者は、慢性腎臓病患者を対象として腎機能低下時における遺伝子発現変化を網羅的に調べた。さらに、慢性腎不全、シスプラチン腎症、および腎虚血再灌流障害のモデル動物を用いて、尿細管上皮細胞におけるmTOR経路の役割に着目した系統的な解析を行い、以下の新知見を得た。

I. 慢性腎臓病患者の腎生検組織における遺伝子発現解析と疾病関連因子の探索

京都大学において腎生検を施行された慢性腎臓病患者のうち、書面による同意が得られた48名を対象に腎生検組織より抽出したtotal RNAを用いてマイクロアレイ解析を行った。同時に、市販の健常人由来の腎total RNAを対照とし、慢性腎臓病において高発現する遺伝子群を抽出した。その結果、Cyclin B2を含む細胞周期関連遺伝子群の発現変化が顕著であることを見出した。このように、慢性腎臓病患者における腎病変の特徴を分子的側面から明らかにすることができた。

II. 慢性腎不全時の近位尿細管におけるmTOR経路の役割

著者の所属する研究室では、慢性腎不全のモデル動物である5/6腎摘出 (Nx) ラットを用いた解析から、mammalian target of rapamycin (mTOR) が近位尿細管における細胞周期の活性化に関与することを明らかにしてきた。そこで、Nx処置後2および8週間目のラットに対するmTOR阻害薬エベロリムス処置の効果を調べた。その結果、Nx処置後2および8週間目の近位尿細管上皮細胞において、mTOR経路が著名に活性化すること、およびエベロリムス処置によりmTOR活性化を抑制し得ることを見出した。特に、腎間質の線維化が顕著となるNx処置後8週間目からエベロリムスを処置した場合では、間質線維化およびアルブミン尿の抑制が観察された。また、エベロリムス処置により近位尿細管における蛍光標識アルブミンの再吸収能やトランスポータータンパク質発現量の回復が認められた。従って、末期腎不全時の近位尿細管におけるmTOR経路の活性化は、物質輸送という尿細管機能の低下をもたらすことが示された。

III. 近位尿細管上皮細胞のオートファジーに及ぼすmTOR活性化の影響

Nx処置に加えて、尿細管障害のモデル動物としてシスプラチン投与または腎虚血再

灌流処置を施したラットを実験に供した。腎臓におけるオートファジーの活性をリン脂質結合型microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3-II) 発現量で評価したところ、Nx処置後の腎臓におけるmTOR活性化はオートファジーの抑制につながることを示された。シスプラチンおよび虚血再灌流処置後の腎臓においてもmTORの活性化とオートファジーの抑制が認められた。次に、エベロリムスの前処理に引き続きシスプラチン投与または虚血再灌流処置を行ったところ、腎臓中のオートファジー活性は保持されたものの、個体レベルの腎機能は著しく低下した。このことから、代償性腎不全期や急性腎障害からの回復過程において、mTORはオートファジーを制御することで尿細管上皮細胞の機能維持または修復に寄与することが示唆された。

以上、著者は腎近位尿細管におけるmTOR経路の役割に着目した解析を行うことにより、腎障害時における尿細管病変の進展と修復に関わる分子機構を一部明らかにした。本研究成果は、腎病変進展の分子機構を考慮した個別化薬物治療の実現に向けて有用な基礎的知見になると考える。

よって本論文は博士（薬学）の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成24年2月21日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成 年 月 日以降