

京都大学	博士 (医学)	氏名	加藤 有希子
論文題目	Natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A pathway counteracts glomerular injury evoked by aldosterone through p38 mitogen-activated protein kinase inhibition (ナトリウム利尿ペプチド/グアニル酸シクラーゼ A 受容体シグナルはアルドステロンによる糸球体障害に対して p38 MAPK 阻害を介して拮抗することに関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>アルドステロンは糸球体のポドサイトに直接作用し、レニン・アンジオテンシン系の活性化や酸化ストレスの活性化などの様々な機序により腎障害をもたらす。ナトリウム利尿ペプチド (atrial natriuretic peptide: ANP、brain natriuretic peptide: BNP)は受容体であるグアニル酸シクラーゼ A (guanylyl cyclase-A: GC-A)を介し、利尿および血管拡張作用を発揮する。京都大学内分泌代謝内科腎臓研究室では以前、GC-A 欠損 (KO)マウスに片腎摘、高塩食ならびにアルドステロン (ALDO) 負荷を行うと、高度の高血圧とともに著しいアルブミン尿とポドサイトにおける p38 MAPK のリン酸化が亢進することを報告した。しかしながらポドサイト障害における p38 MAPK の役割やナトリウム利尿ペプチド/GC-A シグナルとの相互作用については不明な部分が多かった。今回、ポドサイト特異的 GC-A KO (pod-GC-AcKO)マウスを作製し、全身性 GC-A KO マウスならびに pod GC-A cKO マウスに ALDO 負荷を行い、腎障害時のポドサイトにおける GC-A の役割ならびに p38 MAPK の意義について検討した。</p> <p>ALDO 負荷全身性 GC-A KO マウスに p38 MAPK 阻害薬 FR167653 を投与すると、20 mmHg 血圧が低下し、アルブミン尿が 9,000 μg/mgCr から 600 μg/mgCr へと 93%著減した。また、p38 MAPK 阻害薬投与により糸球体の腫大とメサンギウム基質増加が改善した。ALDO 負荷で低下したポドサイトマーカーであるネフリンとポドシンの発現が維持され、電顕所見で足突起の消失を認めず、p38 MAPK 阻害によるポドサイト障害の抑制が示唆された。また、TUNEL 染色陽性細胞が減少していることから、アポトーシスの抑制が示唆された。</p> <p>ALDO 負荷 pod GC-A cKO マウスでは収縮期血圧 110 mmHg 台と野生型と同程度の血圧にもかかわらず、尿アルブミン排泄が 1,000 μg/mgCr と 13 倍に増加した。また、pod-GC-A cKO マウスでは傍髄質糸球体腫大、メサンギウム基質増加、ポドサイトの足突起の消失を認め、アポトーシス亢進ならびにポドサイト障害の増悪を認めた。さらに、ポドサイトにおける p38 MAPK の活性化を認めた。p38 MAPK 阻害薬の投与によりそれらの変化はすべて抑制された。</p> <p>最後に、培養細胞を用いて p38 MAPK の活性化とアポトーシスの関連、ANP による抑制効果の有無について検討した。ヒト培養ポドサイトで p38 MAPK の上流のキナーゼである MKK3 の constitutive active 体を過剰発現させると、p38 MAPK 活性化とともにアポトーシスに関わる Bax 発現の亢進と Bcl-2 の抑制を認めた。ANP の前投与は p38 MAPK リン酸化の抑制とともに、BAX/Bcl-2 比を正常化した。また、ANP の投与により MAPK phosphatase-1 (MKP-1)のリン酸化が亢進し、MKP-1 の活性化により p38 MAPK が脱リン酸化されることが示唆された。</p> <p>本研究では、ポドサイト局所においてナトリウム利尿ペプチドは p38 MAPK を抑制することによりアルドステロンによる糸球体障害に対して腎保護効果を有していること、ポドサイトにおいてナトリウム利尿ペプチドは MKP-1 をリン酸化することにより p38MAPK を抑制することを解明した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

ナトリウム利尿ペプチド/グアニルシクラーゼ(GC-A)シグナルはアルドステロンに拮抗する作用を有している。全身性 GC-A KO マウスに片腎摘後にアルドステロン投与と塩分負荷を行う(ALDO)と高血圧と著明なアルブミン尿を呈し、ポドサイトの p38 MAPK のリン酸化が亢進することが報告されているが、ポドサイトにおける GC-A および p38 MAPK の役割については不明であった。

本研究は全身性 GC-A KO マウスと新たに作製されたポドサイト特異的 GC-A KO (pod GC-A cKO)マウスを用いて研究が進められた。ALDO 負荷全身性 GC-A KO マウスに p38MAPK 阻害薬を投与すると血圧が低下し、アルブミン尿が著減、ポドサイト障害とアポトーシスが抑制された。次に、ALDO 負荷 pod GC-A cKO マウスでは血圧は上昇変化せず、糸球体腫大、メサンギウム基質増加、ポドサイト障害とアポトーシスが認められ、この変化は p38 MAPK 阻害薬により抑制された。ヒト培養ポドサイトを用い、constitutive active MKK3 を過剰発現させると p38 MAPK リン酸化とアポトーシス関連の Bax 発現が上昇するが、ANP の前投与で抑制された。以上から、ポドサイトにおいてナトリウム利尿ペプチドが p38 MAPK を抑制することにより腎保護効果を有していることが示された。

以上の研究は腎障害の原因となるポドサイト障害の機序解明に貢献した。

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 30 年 8 月 9 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降