

|             |                                                                                                                                                                                         |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名         | こし かわ まさ お<br>越 川 真 男                                                                                                                                                                   |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                               |
| 学 位 記 番 号   | 論 医 博 第 1911 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 p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Activation in Podocyte Injury and Proteinuria in Experimental Nephrotic Syndrome<br>(実験的ネフローゼ症候群での糸球体足細胞傷害および蛋白尿発症における p38 MAP キナーゼ活性化の意義) |
| 論文調査委員      | (主 査)<br>教 授 稲 垣 暢 也    教 授 小 川    修    教 授 横 出 正 之                                                                                                                                     |

### 論 文 内 容 の 要 旨

腎臓での濾過機能を司る糸球体足細胞 (podocyte) は、正常な糸球体機能および形態の維持に重要であり、その傷害は蛋白尿や糸球体硬化を引き起こす。Podocyte の傷害はネフローゼのみならず、他の腎疾患においてもその予後を規定する主要な因子の一つであり、その制御は腎障害進展抑制の上で重要であると考えられる。一方、MAP キナーゼ (MAPK) は、種々の臨床的・実験的腎疾患において、メサングウム細胞増殖や炎症の増悪と関連して活性化が報告されているが、podocyte 傷害における MAPK の役割については不明であった。本研究では、podocyte 傷害およびネフローゼ症候群の発症進展における MAPK の意義を明らかにするため、ネフローゼ症候群症例およびマウス・ラット実験的ネフローゼモデル、さらにマウス培養 podocyte を用いて、特に細胞死や細胞骨格の維持に関与する p38 MAPK を中心に検討を行った。

腎生検を施行したネフローゼ症候群症例 (微小変化型ネフローゼ、膜性腎症、巣状分節状糸球体硬化症) において、podocyte における p38 MAPK のリン酸化を免疫組織化学にて検討した。また、実験的ネフローゼモデルであるラット puromycin aminonucleoside (PAN) 腎症およびマウス adriamycin (ADR) 腎症を用いて、p38 MAPK のリン酸化を Western blot 法、免疫組織化学にて検討した。さらに、PAN 腎症、ADR 腎症に p38 MAPK 阻害剤 FR167653 (FR; 33 mg / kg / day) を腎症惹起 2 日前から 2 週間連日皮下投与を行い、その蛋白尿、腎組織変化に及ぼす効果を検討した。

ネフローゼ症候群症例において、podocyte におけるリン酸化 p38 MAPK 陽性細胞数は正常に比し高値であった。PAN 腎症、ADR 腎症において、発症 1 日後、3 日後で単離糸球体および podocyte における著しい p38 MAPK のリン酸化亢進を認め、これは有意の蛋白尿出現 (7 日後) に先行していた。p38 MAPK 阻害剤投与により、いずれのモデルにおいても p38 MAPK リン酸化は基礎値と同程度まで低下し、これに伴って蛋白尿はほぼ完全に抑制された。電子顕微鏡所見において、腎症群では podocyte の足突起の癒合および空胞変性を認めたが、阻害剤投与群では足突起はほぼ正常に保たれた。免疫組織化学にて、腎症群ではスリット膜構成蛋白である nephrin の発現低下および gap junction 蛋白である connexin43 の発現亢進を認めたが、阻害剤投与で nephrin の発現は保たれ、connexin43 発現も正常であった。さらに ADR 腎症 2 ヶ月の長期観察において、高度の糸球体硬化および腎障害進展を認めたが、腎症惹起後 14 日までの阻害剤投与にてこれらはほぼ正常にまで改善を認めた。マウス培養 podocyte を用いた検討にて、PAN または酸化ストレス ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 刺激は p38 MAPK リン酸化亢進および足突起を構成するアクチンフィラメントの重合阻害を起こし、阻害剤前処置によりこれらの変化は抑制された。

本研究により、podocyte における p38 MAPK の活性化は実験的ネフローゼ症候群での腎障害発症において必須であることが証明された。p38 MAPK の活性化はネフローゼ症候群症例においても認められ、podocyte 傷害に共通の発症機転であること、さらに蛋白尿を伴う腎疾患において p38 MAPK 阻害が治療的意義を有する可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

糸球体足細胞（podocyte）は、正常な糸球体機能および形態の維持に重要であり、その傷害は蛋白尿や糸球体硬化を引き起こす。MAP キナーゼ（MAPK）は、種々の腎疾患においてその活性化が報告されているが、podocyte 傷害における MAPK の役割については不明である。本研究で申請者は、podocyte 傷害およびネフローゼ症候群の発症進展における MAPK の意義について、特に細胞死や細胞骨格の維持に関与する p38 MAPK を中心に検討した。

ヒトネフローゼ症候群症例において、podocyte におけるリン酸化 p38 MAPK 陽性細胞数は正常に比し高値であった。実験的ネフローゼモデルであるラット puromycin aminonucleoside（PAN）腎症およびマウス adriamycin（ADR）腎症において、蛋白尿出現に先行して単離糸球体および podocyte における p38 MAPK の著しいリン酸化亢進を認めた。PAN 腎症・ADR 腎症に対し p38 MAPK 阻害剤投与により、p38 MAPK リン酸化は基礎値と同程度まで低下し、これに伴って蛋白尿および組織学的傷害はほぼ完全に抑制された。これらの結果より、podocyte における p38 MAPK の活性化は podocyte 傷害に必須の発症機転であること、さらに蛋白尿を伴う腎疾患において p38 MAPK 阻害が治療的意義を有する可能性が示唆された。

以上の研究は、糸球体硬化の発症機構の解明に貢献し、腎障害進展抑制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3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。