京都大学	博士（医学）	氏　名	小　川　　喜　久
論文題目	Natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A protects podocytes from aldosterone-induced glomerular injury （アルドステロンによる糸球体傷害に対するナトリウム利尿ペプチド/グアニル酸シクラーゼ A 型(GC-A)受容体シグナルのポドサイト保護作用に関する研究）		

（論文内容の要旨）

ナトリウム利尿ペプチド（natriuretic peptide：NP）は心臓や血管から分泌され、循環調節を司るホルモンであり、血管拡張・降圧利尿作用、細胞増殖抑制・線維化抑制作用、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン（RAA）系抑制作用を有する。その作用は、受容体である 2 種類の膜型グアニル酸シクラーゼ（GC）を介して発揮されるが、心臓ホルモンである心房性（ANP）および脳性ナトリウム利尿ペプチド（BNP）は GC-A に作用する。これらは心不全治療薬として現在広く臨床の場で使用され、また腎臓においても、種々の疾患モデルで腎保護的に作用することが示されてきた。その効果は、主に尿細管を介した降圧利尿作用であり、とくに RAA 系への拮抗作用が中心的機序と考えられているが、詳細については依然不明な点が少なくない。一方、アルドステロンは心臓や腎臓に対してナトリウム貯留作用とは独立した組織傷害作用を有することが示され、注目されている。本研究は、アルドステロンによる腎障害に対して、GC-A を介したナトリウム利尿ペプチドの保護作用の有無とその機序を解明することを目的とし、全身的に GC-A を欠損させたマウス、およびその機能異常が蛋白尿や腎障害の発症・進展に深く関与すると考えられる腎糸球体上皮細胞（podocyte）の cell line を用いて研究を行った。

12 週齢の雄性 GC-A 欠損マウスおよび野生型マウスに片腎摘を施し、6 %食塩食投与および浸透圧ミニポンプを用いてアルドステロン（0.2 μg/kg/分）の持続皮下投与を行った。4 週間後に屠殺し、腎臓の組織学的および免疫組織化学的解析、ならびに種々の遺伝子発現の変化を検討した。4 週間のアルドステロン投与および高食塩負荷により、野生型では軽度の血圧上昇（収縮期血圧 118 mmHg）および尿アルブミン増加（対照の~3 倍）を示したが、GC-A 欠損マウスでは著しい高血圧（収縮期血圧 159 mmHg）と、著明なアルブミン尿増加（~260 倍）を認めた。腎組織の解析では、アルドステロン負荷 GC-A 欠損マウスにおいて、著しいメサンギウム領域拡大、糸球体の分節状硬化、間質線維化、podocyte 傷害、活性酸素種の増大、mitogen-activated protein kinase（MAPK：ERK および p38MAPK）の活性化、細胞外基質関連遺伝子の発現亢進が観察された。ヒドララジン投与による降圧によっても、これらの抑制は認められなかった。一方、ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬（スピロノラクトン）ないしアンジオテンシン II 1 型受容体拮抗薬（オルメサルタン）投与による RAA 系阻害や、活性酸素種スカベンジャー（テンポール）の投与は、腎糸球体の MAPK リン酸化や酸化ストレスを抑制し、腎組織変化、podocyte 傷害、および尿蛋白を明らかに改善させた。すなわち、アルドステロンは GC-A 欠損状態では主に podocyte において、RAA 系活性化および酸化ストレス亢進により細胞傷害的に作用すること、ナトリウム利尿ペプチドは GC-A を介してこれらのカスケードに抑制的に作用することが示された。さらに、培養マウス podocyte へのアルドステロン投与により、細胞内 MAPK リン酸化とともに、podocyte 傷害マーカーである connexin43 の遺伝子発現亢進を認めた。そして、ANP の共投与により、MAPK 活性化がほぼ完全に抑制された。

本研究により、アルドステロンによる受容体活性化とそれに続く podocyte 局所での RAA 系亢進が、酸化ストレス増大および MAPK 活性化を介して細胞傷害的に作用すること、生理的条件下ではナトリウム利尿ペプチド/GC-A シグナルがこれらに拮抗的に作用して腎保護的に働くことが明らかとなり、腎障害における新たな治療標的となる可能性が示唆された。

（論文審査の結果の要旨）

ナトリウム利尿ペプチドは、心臓や血管から分泌され循環調節を司る降圧利尿ホルモンであり、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン（RAA）系抑制作用を有する。本研究では、ANP と BNP の受容体であるグアニル酸シクラーゼ A（GC-A）を介した腎保護、ならびに RAA 系拮抗作用の機序解明を目的とし、GC-A 欠損マウスおよび培養腎糸球体上皮細胞（ポドサイト）を用いて検討が行われた。

GC-A 欠損マウスは、片腎摘・高食塩負荷に加えてアルドステロン投与を行うと、著しい高血圧と蛋白尿の増加を示した。また、アルドステロン負荷 GC-A 欠損マウスにおいて、糸球体メサンギウム拡大、分節状硬化、ポドサイト傷害、線維化関連遺伝子発現の亢進を認めた。蛋白尿ならびにこれらの組織変化はヒドララジンによる降圧では改善せず、RAA 系阻害や活性酸素種スカベンジャーの投与により明らかに抑制された。この機序に、腎糸球体での mitogen- activated protein kinase（MAPK）活性化抑制や酸化ストレス軽減が重要と考えられた。さらに、培養マウスポドサイトへのアルドステロン投与は、MAPK 活性化とともにポドサイト傷害マーカーである connexin43 の発現亢進を認め、ANP の共投与は MAPK 活性化をほぼ完全に抑制した。

以上の研究は、アルドステロンによる腎障害とナトリウム利尿ペプチドによる腎保護作用の機序解明に貢献し、蛋白尿発症の理解や腎疾患の新たな治療法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24年9月11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