

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名	岸 本 和 也 <small>まし もと かず や</small>		
学位の種類	博 士 (医学)		
学位記番号	医 第 1 0 4 8 号		
学位授与の日付	平 成 2 3 年 3 月 2 2 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
学位論文題目	Therapeutic effect of retinoic acid on unilateral ureteral obstruction model (一側尿管結紮モデルマウスにおけるレチノイン酸の治療効果)		
論文審査委員 (主 査)	教授	松 村	到
	(副主査)	教授 竹 村	司
	(副主査)	教授 宗 像	浩

【背景】

ビタミン A 誘導体であるレチノイン酸は従来の抗悪性腫瘍作用や免疫調節作用に加え、最近、抗線維化作用を有することがわかってきた。今回我々は腎臓の間質線維化モデルである一側尿管結紮マウス (UUO) を使用し、ATRA の治療効果を検討した。

【方法】

8 週齢の C57BL/6J マウスを使用。まず予防効果を検討するために、UUO 作成 3 日前から 0.5mg の ATRA を腹腔内投与し、作成 7 日後に処分した (UUO ATRA)。次に治療効果を検討するために、UUO 作成 3 日後から 0.5mg の ATRA を 4 日間投与し、作成 7 日後に処分した (Day3 ATRA)。ATRA を投与せずに UUO 作成 7 日後に処分した群をコントロール群とした (UUO Day7)。各々のグループに関し、免疫病理学的に組織染色や免疫染色法 (macrophage, α SMA, collagen I, TGF β)、RT-PCR 法 (MCP-1, TGF β , TGF β 受容体) を用いて比較検討した。

【結果】

コントロール群に対し、Day3 ATRA 群は UUO ATRA 群と同等に腎尿管間質病変を抑制するとともに腎組織の TGF- β 1, α SMA, collagen I の発現を抑制した。また Day3 ATRA 群は UUO ATRA 群ほどではないが、コントロール群と比較して、間質への macrophage の浸潤や腎組織中の MCP-1 の発現を有意に抑制した。以上より ATRA 投与群はコントロール群に比べ予防投与はもちろん治療目的投与でも有意に改善傾向を認めることがわかった。

【考察】

レチノイン酸は細胞の増殖、分化、アポトーシスに深く関与しており、レチノイン酸受容体は糸球体メサンギウム細胞や尿管上皮細胞に加え、macrophage や fibroblast などの炎症細胞にも発現している。今回の結果から腎線維化病変の初期では ATRA は NF κ B や AP-1 を介して尿管上皮細胞により産生される MCP-1 を抑制することにより抗炎症効果を有し、増悪期では間質に浸潤している macrophage や fibroblast により産生される TGF- β 1 を抑制することにより抗線維化効果を有していると考えられ、UUO モデルにおいて、初期の炎症を抑え切れなくても増悪期の線維化を抑制できれば、腎尿管間質線維化の進行を抑制できることが示唆された。

【結論】

進行性腎線維化病変における ATRA の投与は、予防効果に加え治療効果が期待できることが示唆された。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2011 年 3 月 日 公表予定	Nephron Experimental Nephrology Vol. No. 2011 年 3 月 日 発行予定
	公 表 内 容	
	全 文	

論文審査結果の要旨

【背景/目的】

CKDの病態には腎硬化が深く関与していることが知られている。間質の線維化は腎臓病の進行における重要な因子であり、腎硬化症のモデルであるUUO；unilateral ureteral obstruction マウスは尿細管の炎症や腎臓の線維化の病理学的メカニズムを学ぶための典型的なモデルとして知られている。UUO後の腎間質の線維化の経路は、尿排泄障害などの機械的刺激が発生し、尿細管圧が上昇し、尿細管の変性・壊死が起こり、その結果尿細管上皮細胞から monocyte chemoattractant protein(MCP-1)が放出され、macrophage が間質に浸潤し、transforming growth factor(TGF)- β 1などのサイトカインが放出され、間質の線維化が進行すると知られている。ビタミンA誘導体であるレチノイン酸（以下 ATRA: all-trans-retinoic acid）は従来の抗悪性腫瘍作用や免疫調節作用に加え、近年、肝臓や肺の線維化を抑制することが立証されている。腎臓においても同様の作用が証明されれば、将来的にヒトへの応用も可能となり、CKDの改善に寄与するものと考えられる。今回、我々はUUOマウスに対してレチノイン酸を使用し、予防・治療効果を検討した。

【方法】

8週齢の雌のC57BL/6Jマウスを使用。まず予防効果を検討するために、UUO作成3日前から20mg/kgのATRAを腹腔内投与し、作成7日後に処分した(UUO ATRA)。次に治療効果を検討するために、UUO作成3日後から20mg/kgのATRAを4日間腹腔内投与し、作成7日後に処分した(Day3 ATRA)。ATRAを投与せずにUUO作成7日後に処分した群をコントロール群とした(UUO Day7)。各々のグループに関し、免疫病理学的に組織染色や免疫染色法(macrophage、 α SMA、collagen I、TGF β)、RT-PCR法(MCP-1、TGF β 、TGF β 受容体)を用いて比較検討した。

【結果】

コントロール群に対し、Day3 ATRA群はUUO ATRA群と同等に腎尿細管間質病変を抑制するとともに腎組織のTGF- β 1、 α -SMA、collagen Iの発現を抑制した。またDay3 ATRA群はUUO ATRA群ほどではないが、コントロール群と比較して、間質へのmacrophageの浸潤や腎組織中のMCP-1の発現を有意に抑制した。以上より ATRA 投与群はコントロール群に比べ予防投与はもちろん治療目的投与でも有意に改善傾向を認めることがわかった。

【考察】

レチノイン酸は細胞の増殖、分化、アポトーシスに深く関与しており、レ

チノイン酸受容体は糸球体メサンギウム細胞や尿細管上皮細胞に加え、macrophage や fibroblast などの炎症細胞にも発現している。これまで様々な実験腎炎でレチノイドの効果が立証されている。メサンギウム増殖性糸球体腎炎モデルラットである抗 Thy1.1 モデルラットでは、メサンギウム増殖の抑制、糸球体障害や蛋白尿の減少、微小変型ネフローゼ症候群のモデルラットでは、ポドサイトの機能や構造、蛋白尿の改善を促す効果が立証され、また SLE モデルマウスでは腎臓の障害を減少させ、survivalを増加させるといった報告がある。レチノイン酸は前述の受容体を介してこのような効果を有していると考えられる。腎線維化病変の初期では ATRA は NF κ B や AP-1 を介して尿細管上皮細胞により産生される MCP-1 を抑制することにより抗炎症効果を有していると考えられ、今回、MCP-1の発現や macrophage の沈着が予防投与群では抑制できていたが、治療投与群では部分的にしか抑制できていないことを考慮すると、治療投与では、すでに活性化された macrophages を完全に抑制するのは困難ではないかと推測される。増悪期では間質に浸潤している macrophage や fibroblast により産生される TGF- β 1 を抑制することにより抗線維化効果を有していると考えられ、今回の結果、腎尿細管間質病変とともに、TGF- β 1の発現や α -SMA、collagen Iの発現が予防投与・治療投与両群で同等に抑制できていることから、治療投与でも線維化抑制効果があると考えられる。すなわち、UUOモデルにおいて、初期の炎症を抑え切れなくても増悪期の線維化を抑制できれば、腎尿細管間質線維化の進行を抑制できることが示唆された。

【結語】

進行性腎線維化病変における ATRA の投与は、予防効果に加え治療効果が期待できることが示唆された。