

氏名	いとう こうき 伊藤 校輝
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成26年3月26日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチドによる Peroxisome Proliferator – Activated Receptor Gamma 発現誘導を介した虚血再灌流腎における保護効果に関する研究
論文審査委員	主査 教授 齋木 佳克 教授 下川 宏明 教授 中山 啓子

論文内容要旨

研究背景および目的：心臓大血管手術における周術期腎障害は、術後の合併症や死亡率上昇に強く関連することが知られている。周術期腎障害を惹起する主な危険因子として、虚血・再灌流障害が挙げられるが、それを完全に抑制し得る決定的な戦略はいまだ確立されていない。本研究においては、新たな腎保護戦略の確立を目指し、心不全治療薬として現在臨床応用されているヒト心房性ナトリウム利尿ペプチド(hANP)と、脂肪細胞の分化やインスリン感受性の制御に重要な役割を担っているとされる PPAR- γ のアゴニストであるピオグリタゾンに注目した。この適応疾患の異なる2種の薬剤は、ともに抗炎症作用や腎保護作用が報告されており、また急性および慢性炎症の制御を担う NF- κ B の抑制などをはじめとして多くの共通した機序が報告されているが、その関連性についての報告はない。そこで、hANP が虚血再灌流腎組織での PPAR- γ の発現・活性の促進を介して腎保護効果を発揮するとの仮説を立て研究を行った。

方法：両側腎動脈を常温で60分間遮断することによりブタ急性期腎虚血再灌流モデルを作成し、虚血開始前、虚血終了直前、再灌流後1、2、3および4時間で全身血および腎組織を採取した。投与薬剤により、1) Control 群(n=6)、2)低用量ピオグリタゾン投与群(LPIO 群；n=6)、3)高用量ピオグリタゾン投与群(HPIO 群；n=6)、4)hANP 投与群(n=5)、5)hANP+GW9662(PPAR- γ アンタゴニスト)投与群(n=3)、の5群に分類し比較検討した。まず hANP とピオグリタゾンの虚血再灌流腎における腎保護効果を、血清 NGAL(neutrophil gelatinase-associated lipocalin)値と組織病理学的スコアリングにより比較検討した。次に、hANP 群におけるブタ腎組織での PPAR- γ 発現および活性の検討を免疫染色および real-time qRT-PCR 法を用いて行った。PPAR- γ 活性は、

(書式 1 2)

標的遺伝子の 1 つである LXR- α (liver X receptor)の発現を検討することで評価した。

結果：血清 NGAL 値は、Control 群と比較し hANP 群では全ての時点で低い傾向にあり、再灌流後 2、3 および 4 時間で有意な低下を認めた。一方、hANP+GW9662 群では有意な低下を認めなかった。病理学的評価では、Control 群、LPIO 群および hANP+GW9662 群では虚血前と比較し再灌流後に有意な障害尿細管の割合の上昇を認めたが、hANP 群および HPIO 群では認めなかった。PPAR- γ および LXR- α 免疫染色では、ともに腎皮質～髄質外層外帯および髄放線の近位尿細管上皮細胞、血管内皮を中心に発現を認めた。PPAR- γ 免疫染色における染色陽性尿細管の割合は、hANP 群と HPIO 群の全時点で発現が Control 群に比し有意に上昇しており、hANP+GW9662 群ではどの時点においても Control 群に比し有意な上昇を認めなかった。LXR- α 免疫染色においても同様の結果であった。また hANP 群において、PPAR- γ mRNA の発現は再灌流後 2、3 および 4 時間で、LXR- α mRNA の発現は再灌流後 4 時間で、Control 群に比し有意な上昇を認めた。hANP+GW9662 群ではいずれも、Control 群に比し有意な上昇を認めなかった。

結論：1) PPAR- γ アゴニストであるピオグリタゾンおよび hANP 投与により、ブタ腎虚血再灌流障害モデルにおいて、腎保護効果を認めた。2) hANP 投与により、ブタ虚血再灌流腎組織における PPAR- γ の発現と活性の上昇を認めた。3) hANP と PPAR- γ アンタゴニストである GW9662 を同時に投与することで、ブタ虚血再灌流腎組織における PPAR- γ の発現と活性の上昇が抑制され、同時に腎保護効果の減弱を認めた。4) 以上より、hANP が腎組織における PPAR- γ の発現誘導および活性化の促進を介して、腎虚血再灌流障害に対する保護効果を発揮することが示された。

審査結果の要旨

博士論文題目ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチドによる Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma 発現誘導を介した虚血再灌流腎における保護効果に関する研究

所属専攻・分野名医科学..... 専攻・心臓血管外科学..... 分野
氏名伊藤 校輝.....

本研究は、心臓大血管周術期腎障害の主な原因となる虚血再灌流障害に対するヒト心房性 Na 利尿ペプチド (hANP) の保護効果において、PPAR- γ を介した機序が関与していることを明らかにしたものである。hANP の腎保護効果については以前から報告があるものの、その作用機序に関してはいまだ十分な解明がなされていない。PPAR- γ アゴニストと hANP 製剤は適応疾患の異なる薬剤であり、この 2 つの薬剤の関連性に関する報告は現在まで認められておらず、非常に高い新奇性をもつ研究結果といえる。

心臓大血管手術における術後の合併症や死亡率上昇に強く関連する周術期腎障害に対する新たな腎保護戦略の確立を企図し、心不全治療薬として現在臨床応用されている hANP と、脂肪細胞の分化やインスリン感受性の制御に重要な役割を担っているとされる PPAR- γ のアゴニストであるピオグリタゾンに着眼されている。この異なる 2 種の薬剤は、ともに抗炎症作用や腎保護作用が報告されていること、また急性および慢性炎症の制御を担う NF- κ B の抑制などをはじめとして多くの共通した機序が報告されていることから、hANP が虚血再灌流腎組織での PPAR- γ の発現・活性の促進を介して腎保護効果を発揮するという作業仮説形成のもと研究が遂行された。ブタ急性期腎虚血再灌流モデルにおいて、投与薬剤により、1) Control 群 2) 低用量ピオグリタゾン投与群 3) 高用量ピオグリタゾン投与群 4) hANP 投与群 5) hANP + GW9662 (PPAR- γ アンタゴニスト) 投与群の 5 群に分類し、生化学的、病理組織学的、免疫組織学的に比較検討している。

そして hANP が腎組織における PPAR- γ の発現誘導および活性化の促進を介して、腎虚血再灌流障害に対する保護効果を発揮するという結論を導き出している。

本研究は、今まで報告されていない全く新しい知見を生み出し、腎保護効果に繋がる新たなシグナル伝達経路を明らかにしたものであり、非常に高い学術的意義を有す。また、この結果をさらに検討することで、心臓大血管周術期腎障害予防の新たなストラテジーとして hANP およびピオグリタゾンの使用が臨床応用されていく可能性をも見出した。

以上の点から、基礎的・臨床的に重要な研究であると判断された。

よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。