

| | |
|---------|--|
| 氏名 | あきやま やすとし 秋山 泰利 |
| 学位の種類 | 博士 (医学) |
| 学位授与年月日 | 平成 24 年 3 月 27 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 | 慢性腎臓病における SLC04C1 トランスポーター発現低下メカニ ズムの解明と悪循環のキャンセルによる新規 CKD 治療法の開発 |
| 論文審査委員 | 主査 教授 伊藤 貞嘉 教授 宮田 敏男 教授 呉 繁夫 |

論文内容要旨

慢性腎臓病 (Chronic Kidney Disease; CKD) において尿毒症物質の蓄積は糸球体濾過の低下を招くだけでなく、尿細管に発現するトランスポーターの発現や機能にも影響を与える可能性が示唆されている。これまで我々はヒト腎臓近位尿細管血管側にのみ発現する有機アニオントランスポーター-SLC04C1 を単離し尿毒症物質の排泄に関わることを明らかにした。さらに HMG-CoA 還元酵素阻害薬であるスタチンが SLC04C1 の発現を増強することで尿毒症物質の排泄を促進することを明らかにし、SLC04C1 の発現を増強させることが新たな CKD 治療戦略となる可能性を報告した。一方 CKD においては SLC04C1 の発現が低下することが明らかとなり、腎機能低下時には十分な尿毒症物質の排泄が行われていない可能性が考えられたが、この SLC04C1 抑制のメカニズムはいまだ不明であった。

今回我々は尿毒症物質が直接 SLC04C1 遺伝子の発現を抑制する可能性を検討するため、以前同定した腎機能低下とともに血中に蓄積する各種化合物を用い、これらの SLC04C1 mRNA 発現への影響をスクリーニングした。その結果インドキシル硫酸 (IS) が濃度依存性に SLC04C1 発現を抑制することが明らかとなった。

次に SLC04C1 遺伝子の 5' 上流領域に GATA 配列が複数あることに着目し、IS が GATA 転写因子を介して SLC04C1 の発現を低下させるとの仮説をたてた。GATA 阻害薬 K-7174 を用いた検討では、K-7174 は濃度依存性に SLC04C1 mRNA の発現を亢進させ、さらに IS の SLC04C1 mRNA に対する抑制効果をキャンセルした。そこで IS による GATA 転写因子の発現変化を検討したところ、IS が濃度依存性に GATA3 の発現を亢進させることが明らかとなった。また GATA3 を過剰発現させると SLC04C1 の発現が低下し、逆にノックダウンすると SLC04C1 の発現は上昇した。In vivo の検討ではラットに IS を投与すると腎 slco4c1 の発現が低下し、slco4c1 の基質であるグアニジノコハク酸の血中濃度が上昇した。さらに慢性腎不全モデルラットに対し AST-120 を投与したところ、インドキシル硫酸の血中濃度の低下とともに slco4c1 mRNA の発現が有意に上昇し、グアニジノコハク酸の血中濃度が低下した。これらより SLC04C1 の発現は GATA3 により負に制御されており、IS は GATA3 の発現増強を介して SLC04C1 の発現を低下させることが示唆された。

さらに CKD の主要な合併症である腎性貧血に対する IS の影響も検討したところ、Hep3B 細胞において IS は GATA2 および GATA3 の発現増強を介してエリスロポエチンの転写と産生を抑制することが明らかとなり、IS は GATA2、GATA3 の増強を介して腎性貧血にも関与している可能性が示唆された。

以上より IS は SLC04C1 の発現低下を介してさらなる尿毒症物質の蓄積を招く尿毒症物質の悪性サイクルの原因物質である可能性が示唆された。さらに IS は GATA 転写因子の誘導作用を介して腎性貧血の悪化因子としても機能する可能性が明らかとなり、CKD における治療標的としての重要性が示

唆された。AST-120（クレメジン™）による IS の除去だけでなく、尿毒症物質により腎に過剰に発現した GATA を抑制することが CKD の進行抑制のための新たな治療戦略となる可能性があると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題名.....慢性腎臓病における SLC04C1 トランスポーター発現低下メカニズムの解明と
.....悪循環のキャンセルによる新規 CKD 治療法の開発.....

所属専攻・分野名.....医科学 専攻・腎・高血圧・内分泌学分野.....

学籍番号..... 氏名 秋 山 泰 利.....

慢性腎臓病(Chronic Kidney Disease ; CKD)は糸球体濾過量 (GFR) が 60ml/min/1.73m²未満、または、アルブミン尿などの腎損傷の所見が3ヶ月以上続く状態と定義されている。CKD 患者は末期腎不全のみならず心血管疾患の高リスク患者であり、かつ、CKD 患者が全国で 1300 万人もいる現状から、CKD の病態解明および対策は極めて重要な課題である。腎機能低下による尿毒症物質の蓄積は全身の血管系や免疫系に影響を及ぼすのみならず、それ自体がさらに糸球体濾過の低下を招くとともに貧血などの増悪因子になっており、悪循環を形成している。これまでの研究により、腎機能低下時には、「尿毒素を尿中に排泄する有機アニオントランスポーター (SLC04C1) が抑制され、さらに尿毒素が蓄積する悪循環」が形成されることが示されているが、SLC04C1 を抑制する尿毒症物質の同定はされておらず、SLC04C1 抑制の機序も不明であった。本研究では、SLC04C1 の発現低下により体内に蓄積される各種尿毒症物質（秋山らの先行研究により同定されている）の SLC04C1 発現に対する影響を検討し、インドキシル硫酸(IS)が濃度依存性に発現を抑制することを明らかにした。さらに、IS による SLC04C1 遺伝子の発現調節にはその遺伝子の 5'上流領域にある GATA 配列が重要であることを GATA 阻害薬、GATA3 遺伝子の過剰発現やノックダウンにより解明した。さらに CKD の主要な合併症である腎性貧血の機序として、IS が GATA2 および GATA3 の発現を増強することにより、エリスロポエチンの産生を抑制することも明らかにした。以上より、IS は SLC04C1 の発現を抑制してさらなる尿毒症物質の蓄積、および、腎性貧血を招く CKD の悪循環の原因物質の一つであることが示唆された。また、IS を標的とする CKD の治療の可能性も示唆された。

これらの知見は新規であり、かつ、臨床的に極めて重要な所見である。本研究に用いられた実験手法、結果の解釈などにおいても優れており、本論文は博士(医学)の学位論文として合格と認める。