

審査の結果の要旨

氏名 劉 静

本研究は、降圧、また酸化ストレスによる細胞障害に対する内因性の防御因子と考えられるペプチドアドレノメデュリンの抗酸化ストレスメカニズムを解明するため、片側尿管結紮モデルマウス (UUO) 及び血管平滑筋細胞 (VSMC) を用いて、*in vivo* と *in vitro* の研究を行って、下記の結果を得ている。

1. アドレノメデュリンノックアウトマウスを用いて片側尿管結紮モデルを作成し、病変を検討した。TGF- $\beta$ <sub>1</sub>, collagen III,  $\alpha$ -SMA と PCNA は線維化のマーカーとして、組織免疫染色及び mRNA レベルで検討したところ、野生型の片側尿管結紮モデルでは sham モデルと比べ尿細管の拡大と萎縮をみとめ、組織における TGF- $\beta$ <sub>1</sub>, collagen III,  $\alpha$ -SMA, PCNA は腎尿細管間質において増加を認めた。アドレノメデュリンノックアウトマウスにおいては、これらの変化は更に著明に認めた。
2. 酸化ストレスのマーカーとしては、NF- $\kappa$ B の活性化にて評価した。片側尿管結紮モデルでは NF- $\kappa$ B の活性化の発現の増加がみとめられ、この変化はアドレノメデュリンノックアウトマウスで更に強い変化となって認められた。
3. これら全ての変化は、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬 valsartan で改善を認めた。これらの結果から、片側尿管結紮モデルでは局所のレニンアンジオテンシン系が亢進することで、酸化ストレスが産生され、病理変化を生じること、さらに、血管拡張ペプチ

ドであるアドレノメデュリンは腎間質障害においても酸化ストレスを抑制することで保護的に働く可能性が示された。

4. アドレノメデュリンの抗酸化作用のメカニズムをアンジオテンシンとの関連において、特に酸化ストレス産生系に着目して *in vitro* での検討を行った。ラットの培養平滑筋細胞を用いて、アンジオテンシン I I による活性酸素の産生をアドレノメデュリンが抑制するかどうかを検討した。アンジオテンシン I I は  $10^{-8}$  から  $10^{-6}$  mol/L において濃度依存的に活性酸素を産生させたが、その効果はアドレノメデュリンにより濃度依存的に抑制された。
5. アドレノメデュリンの作用を細胞情報伝達経路からさらに詳しく検討した。アンジオテンシン I I による活性酸素の産生は Src のリン酸化を介して NADPH oxidase を活性化させることが知られていたため、Src リン酸化に与える影響を検討した。アドレノメデュリンは、Src のリン酸化を抑制し、またアンジオテンシン I I による Csk (Src の負性調節因子) の活性化をさらに亢進させた。Src のリン酸化の抑制は、dibutyl-cAMP で同様に認め、H-89 (PKA 拮抗剤), CGRP (8-37) (アドレノメデュリン受容体拮抗剤) でブロックされた。このことからアドレノメデュリンは cAMP, PKA を介して、Csk の活性化さらに Src のリン酸化の抑制を行い、アンジオテンシン I I による活性酸素の産生を抑制しているということが明らかになった。

以上、本論文はアドレノメデュリンが平滑筋細胞における活性酸素の産生の抑制を行うことにより、臓器保護的に作用していることを示した。本研究はアドレノメデュリンの臓器保護メカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。