

審 査 の 結 果 の 要 旨

遠 藤 陽 子

本研究ではチアゾリジン系薬剤 (TZD) による浮腫発症において、近位尿細管の果たす役割を検討するため、ウサギ近位尿細管を用いた実験を行った。また、その分子機構に peroxysome-proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) がどう関わっているか、詳細を調べるために、PPAR γ -/-マウスより得られた胎児線維芽細胞を用いて実験を行い、下記の結果を得ている。

1. 単離したウサギ腎近位尿細管では、ピオグリタゾンを生理的濃度で投与したところ、非常に短時間（数分のうちに）で Na-HCO₃⁻ 共輸送体 (NBC1) を活性化したことを確認した。又、stop-flow 法で解析したこの部位の重炭酸イオンの吸収量も上昇した。この、ピオグリタゾンによる近位尿細管の輸送の亢進作用は、MEK 阻害剤である PD98059 や、PPAR γ 拮抗薬である GW9662 により完全に阻害された。このことから、ピオグリタゾンによるこれらの効果は PPAR γ を介した ERK の活性化に依存していることが強く示唆された。
2. 免疫組織学的解析では、ウサギ腎髓質集合管に強く PPAR γ の発現を認めたが、これに加えて、弱いながら近位尿細管にも PPAR γ の発現を確認した。ウェスタンプロットでも、ウサギ腎皮質・髓質において PPAR γ の存在を確認した。
3. 一連の TZD の近位尿細管作用は極めて早く、PPAR γ の元来の働きである転写活性を介した反応は考えにくい。PPAR γ が早期の ERK 活性を誘起するかを検討するため、マウス線維芽細胞 (EF cell) を用いて実験を行った。EF cell では、ERK の活性化を介して Na/H 交換体 1 (NHE1) が活性化することが知られている。野生型マウス EF cell にピオグリタゾンを投与したところ、ごく短時間に NHE1 を活性化した。しかし、PPAR γ -/-マウスの EF cell では、ピオグリタゾンによる NHE1 の活性化は認めなかった。
4. この細胞に、アデノウイルスにより PPAR γ 全長、あるいは、DNA 結合領域を除いた PPAR γ 遺伝子を導入したところ、ピオグリタゾンによる短時間での NHE1 活性化は野生型細胞と同程度まで回復した。同様に DNA 結合領域の欠損した PPAR γ のうち、リガンド結合領域に変異 (Q286P) を持つ遺伝子を導入した場合には、NHE1 の活性化は認められなかった。これらの結果から、TZD は転写機構を介さずに、短時間で ERK 経路を活性化すること、この ERK 活性化にはリガンド結合領域への TZD の結合が必要であることが確認できた。

以上、本論文では TZD による Na 再吸収量増加機構は、PPAR γ や ERK 経路を介していること、また、この反応はリガンドが PPAR γ に結合する事により進むこと、そして、PPAR γ には、従来より確認されている転写を介した反応とは別の経路があることを初めて確認した。

本研究で解明した浮腫形成のメカニズムが、今後浮腫などの副作用のない薬剤を創る上で一助となりうる事、また、PPAR γ の新しい作用機序を発見したことは、更なる代謝性疾患の原因の解明や治療の進歩に大きく貢献すると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。