

審査の結果の要旨

氏名 高 良 洋 平

TRPC6 は家族性巣状分節性糸球体硬化症の原因遺伝子として同定された Ca^{2+} チャネルである。 Ca^{2+} シグナルが増強する機能亢進異常が糸球体上皮細胞（ポドサイト）障害を惹起すると考えられている。また近年、抗アルドステロン薬による蛋白尿抑制効果からアルドステロンによるポドサイト障害が推測されているがその機序は明らかではない。

本研究は原疾患に関わらず腎機能障害進展に重要な役割を演じていると考えられるポドサイト障害にアルドステロンが与える影響を、TRPC6 を介した Ca^{2+} シグナル変化の観点から検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 腎摘高食塩負荷ラットにおいて、血圧上昇と蛋白尿の増加を認め、**hydralazine** による降圧は蛋白尿を抑制しなかったが、抗アルドステロン薬 **eplerenone** による同等の降圧は蛋白尿を抑制した。
2. 食塩負荷後早期からポドサイト障害が存在し、TRPC6 の発現が亢進していること、尿中酸化ストレスマーカーが増加していることを明らかにした。これらはいずれも **eplerenone** の投与により改善した。
3. 培養ポドサイトにおいて、 Ca^{2+} 蛍光指示薬を用いて細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を検討した。TRPC6 刺激薬 OAG により Ca^{2+} 流入が誘発されることを確認した。アルドステロンおよび H_2O_2 投与により、OAG 誘発 Ca^{2+} 流入が増強し、**eplerenone** もしくは抗酸化薬 **tempol** で抑制された。
4. アルドステロン投与により TRPC6 発現の亢進を認めた。しかし TRPC6 の過剰発現は単独では Ca^{2+} 流入の増強を認めず、 H_2O_2 を投与した場合において TRPC6 の過剰発現は相加的に Ca^{2+} 流入を増強することが示された。
5. イメージングにより TRPC6-GFP の細胞内局在変化を観察したところ、 H_2O_2 投与により細胞内局在がダイナミックに変化し一部辺縁に集積することが示された。
6. アルドステロン、 H_2O_2 投与により膜画分の TRPC6 発現の亢進を認め、アルドステロンによる増加は **eplerenone**、**tempol** で抑制された。

7. アルドステロンにより酸化ストレスが産生されることを確認した。

以上、本論文は 2 次性糸球体硬化を呈するラットと培養ポドサイトを用いて、アルドステロンが腎障害早期より酸化ストレスを介して TRPC6-Ca²⁺シグナルを増強することを明らかにした。2 次性糸球体硬化ーポドサイト障害におけるアルドステロンと TRPC6-Ca²⁺シグナルの関与を示した報告はこれまでにない。2 次性糸球体硬化は腎障害に広く共通する病理変化であり、Ca²⁺シグナルは普遍的な細胞内シグナル伝達機構であることから、本研究は国民病と言える CKD の進行機転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。