

審査の結果の要旨

氏名 瀨崎 敬文

本研究は脂質異常症治療薬の一つであるシンバスタチンによる腎線維化抑制効果のメカニズムの解明のため、尿細管間質線維化モデルマウスおよび MDCK 細胞を TGF- β で刺激して epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) を誘導する系を用いた実験を行い、下記の結果を得ている。

1. マウスにアデニン含有飼料を 4 週間与えて尿細管間質線維化モデルを作成し、シンバスタチンの経口投与を 2 週間行う *in vivo* の実験を行ったところ、シンバスタチン投与によって腎機能（血中 BUN および Cre 値）は有意に改善していた。また、血中コレステロール値はシンバスタチン投与群と非投与群で有意差はなかった。以上より、シンバスタチンによる腎機能改善効果は脂質レベルの変化によるものではないと考えられた。
2. シンバスタチンによって、腎組織の MT 染色や α -smooth muscle actin (α -SMA) 染色で評価した腎線維化や EMT が有意に改善していることが示された。
3. シンバスタチンは Quantitative PCR で評価した腎組織の uterine sensitization-associated gene-1 (USAG-1) の発現を有意に改善したが、bone morphogenic protein-7 (BMP-7) の発現は変化させなかった。また、western blotting で腎組織内の phosphorylated Smad15/8 (pSmad 1/5/8) の発現を評価すると、シンバスタチンにより pSmad1/5/8 の発現が有意に上昇していた。以上の結果から、シンバスタチンは BMP-7 の発現を亢進させるのではなく BMP-7 のアンタゴニストである USAG-1 の発現を抑制することで、BMP-7 の下流のシグナルである pSmad1/5/8 を増強していると考えられた。
4. シンバスタチンは、尿細管間質線維化モデルマウスの腎組織切片の F4/80 染色で評価したマクロファージ浸潤を抑制しており、また Quantitative PCR で評価した腎組織の MCP-1 および TGF- β の発現を抑制していた。

すなわち、シンバスタチンによる腎炎症性変化の改善効果が認められた。

5. MDCK 細胞を用いた実験で、シンバスタチンによって TGF- β で誘導される MDCK 細胞の α -SMA 発現 (EMT) は有意に抑制された。しかしその効果は HOXA13 を RNAi でノックダウンすると認められなくなった。
6. Quantitative PCR による評価において、MDCK 細胞を TGF- β で刺激すると細胞内の USAG-1 発現は有意に上昇したが、シンバスタチンによって抑制された。一方、BMP-7 の発現はシンバスタチン投与によっても変化しなかった。また、HOXA13 の発現は USAG-1 とは反対に、TGF- β の刺激で有意に減少したがシンバスタチンによって改善した。
7. RNAi によって HOXA13 をノックダウンした状態で MDCK 細胞を TGF- β で刺激しシンバスタチンによる介入を行うと、シンバスタチンによる USAG-1 改善効果は認められなくなった。一方、BMP-7 の発現は HOXA13 のノックダウンによっても有意な変化はなかった。上記の 6 も踏まると、シンバスタチンの USAG-1 抑制効果は、シンバスタチンによる HOXA13 の増強を介していることが示唆された。
8. *in vivo* および *in vitro* の実験で EMT の指標として α -SMA の発現を評価したが、上皮系のマーカーの発現がアデニン投与や TGF- β により減弱しているかどうかやシンバスタチンによってそれが改善しているかどうかについても評価することがより望ましいと考えられ、考察でこの点についてディスカッションした。

以上、本論文は、シンバスタチンが USAG-1 抑制効果を介して EMT を改善し、尿細管間質線維化抑制に寄与していると考えられた。また、*in vitro* の実験結果から、シンバスタチンによる USAG-1 抑制効果は転写因子の一つである HOXA13 を介しており、シンバスタチンは HOXA13 の発現を増強することで USAG-1 を抑制していることが示唆された。本研究はこれまで十分明らかにされていないシンバスタチンの腎保護効果メカニズムの一つとして、HOXA13—USAG-1 経路の関与があることが示唆され、今後の慢性腎臓病に対する治療薬の開発などに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。