

d [課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 河原崎 千晶

本研究は、腎糸球体局所でのノルエピネフリン(NE)合成の抑制により高血圧や腎局所の病変を改善するかを評価することを目的として、交感神経亢進モデルである deoxycorticosterone acetate (DOCA)-食塩ラットを対象に、NE 合成の律速段階酵素であるチロシン水酸化酵素(TH)の small interfering RNA (siRNA)を、糸球体メサンギウム細胞を標的にした drug delivery system (DDS)である polyion complex (PIC) nanocarrier を用いて導入し、その効果を検討し、下記の結果を得ている。

1. (in vitro)

プライマリーカルチャーにより作成したDOCA-食塩ラットメサンギウム細胞ではコントロールラットメサンギウム細胞に比しTH発現の亢進、NE含有量の増加を示した。DOCA-食塩ラットメサンギウム細胞はコントロールメサンギウム細胞に比し、その培養メディウム中のNE含有量の増加を示した。DOCA-食塩ラットメサンギウム細胞ではリポソームを用いたTH siRNAの導入で、TH発現の抑制を示した。

2. (in vivo) DOCA-食塩ラットにPIC nanocarrierを用いてTH siRNAおよびscrambled siRNAを投与した。

- ① DOCA-食塩ラットではコントロールラットに比し、平均血圧は上昇していた。TH siRNAおよびscrambled siRNAは、いずれも平均血圧には影響せず、糸球体におけるNE合成は血圧調節に関与していないものと考えられた。
- ② DOCA-食塩ラットにおける尿蛋白・尿アルブミンの増加をTH siRNAの投与は部分的に抑制した。しかし、scrambled siRNAは尿蛋白・尿アルブミンに影響しなかった。すなわち、PIC nanocarrierによるsiRNA導入自体ではなく、THの抑制が尿蛋白・尿アルブミンの改善に重要な役割を果たしていることが考えられた。
- ③ 腎の組織学的検討ではDOCA-食塩ラットはコントロールラットに比べて糸球体の腫大・硬化を認めたが TH-siRNA 投与を投与すると糸球体病変の改善を認めた。Scrambled siRNA は DOCA-食塩ラットの糸球体病変を改善しなかった。間質病変に関しては、DOCA-食塩ラットの間質病変を TH-siRNA および scrambled siRNA の投与は改善効果を認めなかった。つまり、糸球体の NE 合成は糸球体自体の障害の進行に関与しているものの、血圧調節や間質障害には関与していないことが示唆された。
- ④ 糸球体における TH 発現についての検討(免疫染色、RT-PCR)では、DOCA-食塩ラットにおいて TH 発現の亢進を認めた。TH siRNA 投与は TH の発現を抑制したが scrambled siRNA 投与は影響しなかった。すなわち、PIC nanocarrier により TH siRNA は糸球体にとりこまれ、そこで TH の発現を抑制していることが示唆された。

以上、本研究は交感神経亢進モデルである DOCA-食塩ラットにおいて PIC nanocarrier を用いて腎糸球体を標的とした TH siRNA 導入による交感神経抑制は明らかな糸球体保護効果を有することから、糸球体に分布する交感神経の亢進は腎糸球体障害の進展に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

糸球体を標的とした TH 抑制によって腎糸球体に限定した血圧非依存性の腎保護効果を示したことから、血圧調節とは独立した腎障害進展のメカニズムの存在が示され、学位の授与に値するものと考えられる。