森永 潤 氏の学位論文審査の要旨

論文題目
セリンプロテアーゼ阻害薬の腎線維化に対する効果
(The antifibrotic effect of a serine protease inhibitor in the kidney)

慢性腎障害から腎不全至る過程では腎間質の線維化が重要であり、マクロファージから分泌されるTGF-βによる線維芽細胞の活性化がその中心的役割を果たすとされている。また in vitroでは、いくつかのセリンプロテアーゼ阻害薬がTGF-βシグナルを阻害することが報告されている。そこで本研究では、合成セリンプロテアーゼ阻害薬であるメチル酸カモスタット(CM)がTGF-βシグナル障害を介して腎線維化を抑制できるかを検討した。

まず8週齢のSprague-Dawleyラットの片側の尿管を結紮して腎不全モデル(uniateral ureteral obstruction: UUO)を作成した。これと同時に、あるいは術後7日目からCM稀紡剤を投与し、14日に検定した。その結果、コントロール群ではシリンスレッド染色、コラーゲン発現、ヒドロキシプロリン量などで示されるように腎線維化が進行したが、CM投与群ではそれらは有意に改善した。TGF-βシグナル活性の指標であるSmad2/3やERK1/2のリン酸化、線維化促進マーカーであるα-SMA、connective tissue growth factor (CTGF), matrix metalloproteinase (MMP-2)の発現量も有意に抑制された。一方、腎組織中のマクロファージ浸潤とTGF-β1発現量には変化がなかった。以上からCMがTGF-βシグナルを阻害して腎線維化を抑制することが明らかになった。しかし、プロテアーゼが関与するTGF-β1前駆体の活性化には頃著な阻害はみられなかった。

そこでin vitroにおいて、腎線維芽細胞(NRK-49F)へのTGF-β1刺激に対するCMの効果を検討した。TGF-β1刺激によって、Smad2/3やERK1/2のリン酸化、α-SMA、CTGF、MMP-2の発現量は増加したが、これについてはすべてCMによって有意に抑制された。さらにTGF-β1型受容体のリン酸化の抑制が認められたため、CMはTGF-βシグナルを受容体レベルで阻害する可能性が示唆された。

審査では、CMによるTGF-βシグナルの阻害機構、CMによるTGF-β1活性化阻害の可能性、活性化型TGF-β1測定法の限界、in vivo及びin vitroで使用されたCM濃度の妥当性、CMのTGF-βシグナル以外への影響、UUOによる腎線維化に必要な時間、UUOモデル以外へのCMの効果、UUOモデルとヒト腎疾患との相関、他のTGF-βシグナル阻害薬の臨床応用状況とそれに比較したCMの優位性、等について多くの質疑応答がなされ、申請者からは概ね適切な回答が得られた。

本研究は、セリンプロテアーゼ阻害薬メチル酸カモスタット(CM)がTGF-βシグナル阻害作用を介して腎線維化を抑制することを示したものであり、CMが腎線維化と慢性腎障害に対する新規治療薬となる可能性を示唆している。よって学位の授与に値すると判断した。

審査委員長 腎臓発生学担当教授 [西村隆一]