



Title	Transforming growth factor-beta1抑制を介したTJN-331の抗腎炎効果に関する基礎研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	三枝, 弥生
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	乙第6894号
Issue Date	2013-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53958
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yayoi_Saegusa_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏 名 三 枝 弥 生

学 位 論 文 題 名

Transforming growth factor-beta1 抑制を介した TJN-331 の 抗腎炎効果に関する基礎研究

慢性腎臓病 Chronic kidney disease (CKD)の概念が提唱され 10 年以上が経過し、医療現場における腎不全移行を阻止するための早期発見、早期治療の試みがなされているが、いまだに慢性透析患者数は増加し続けている。医療現場での患者救済と医療経済学的な圧迫を改善できうる画期的な新薬の登場が望まれている。

腎炎から腎不全への移行はさまざまな要因が関連するが、不可逆的な糸球体や尿細管・間質の線維化、硬化による腎機能低下が、重要な役割を果たすと考えられている。細胞外マトリックスの蓄積はその初期段階で認められる過程であり、腎疾患における糸球体病理像の典型的な所見である。腎メサンギウム細胞や遊走細胞から産生される Transforming growth factor-beta1 (TGF- β 1)は、細胞外マトリックスの産生を促進する代表的因子であると考えられている。

TJN-331 は、チョロギなどに含有されている植物成分の一つで抗腎炎作用を有するアクテオサイドの構造骨格から合成誘導化された化合物である。この TJN-331 は、尿中タンパク排泄量を指標にした *in vivo* スクリーニングと単離糸球体による TGF- β 1 の産生量を指標とした *in vitro* スクリーニングによって見いだされ、抗腎炎効果を有する事が期待されている。本研究では、各種疾患モデルを用いて TJN-331 の抗腎炎効果に関する検討を試みた。

第 1 章：TJN-331 の IgA 腎症モデルに対する効果の解析

IgA 腎症は、わが国で最も罹患率の高い代表的な腎疾患である。マウスの片腎を摘除後、ウシ γ グロブリンおよびコロイド状カーボンの投与により IgA 腎症モデルを作製した。TJN-331 は腎症惹起後 10 週目から 15 週目まで経口投与し、血清クレアチニン値、糸球体の病理学的評価、TGF- β 1 発現に与える影響を検証した。また、本モデルにおける TGF- β 1 の役割を検証するため、TGF- β 1 中和抗体を静脈内投与し、糸球体組織の病理学的変化に与える影響を検討した。

その結果、本モデルへの TJN-331 投与は、血清クレアチニン値、メサンギウム領域拡大、糸球体細胞数および TGF- β 1 陽性領域の増加を抑制した。加えて、TGF- β 1 中和抗体の投与は本モデルにおけるメサンギウム領域拡大を有意に改善した。

これらの結果から、TGF- β 1 は IgA 腎症モデルのメサンギウム領域拡大を仲介することが明らかとなり、TJN-331 による TGF- β 1 産生抑制効果は抗腎炎作用メカニズムの一端を担う可能性が示唆された。

第 2 章：TJN-331 の抗 Thy-1 腎炎モデルに対する効果の解析

メサンギウム増殖性腎炎の典型的な糸球体病理像であるメサンギウム領域拡大を特徴とするモデルとして、抗 Thy-1 腎炎モデル⁽⁹⁾を用いてメサンギウム細胞増殖に関する直接的な TJN-331 の直接作用を検討した。ラットへ抗 Thy-1 血清を

投与することにより抗 Thy-1 腎炎ラットを作製し、TJN-331 のメサンギウム領域拡大に対する効果を検討した。次に、TJN-331 の TGF- β 1 の産生に対する効果を明らかにするために、本モデルから糸球体を単離し、被験薬と共に 48 時間培養し、上清中の活性型 TGF- β 1 量を定量した。

その結果、TJN-331 投与は、本モデルの糸球体メサンギウム領域拡大、糸球体細胞数増加、新生メサンギウム細胞増殖の指標である PCNA 陽性細胞数の増加、TGF- β 1 陽性領域増加、TGF- β 1 陽性細胞数増加を抑制した。さらに、TJN-331 投与は、本モデルの糸球体における TGF- β 1 タンパクの増加を阻害した。また、TGF- β 1 タンパク産生阻害作用が報告されている対照薬 tranilast の投与では、本モデルにおける PCNA 陽性細胞数の増加のみが抑制された。

これらの結果から、TJN-331 は TGF- β 1 の産生を抑制し、タンパク尿やメサンギウム領域の拡大を抑制する効果を有することが示唆され、その効果は tranilast よりも強力であった。

第 3 章：TJN-331 の半月体形成型抗 GBM 腎炎モデルに対する効果の解析

抗 GBM 腎炎モデル⁽¹¹⁾は、急速進行性腎炎ならびにグッドパスチャー症候群に類似した重篤な腎炎のモデルとして知られている。本モデルを用い、TJN-331 が多量のタンパク尿や糸球体の顕著な増殖に対し効果を示しうるか否かを検討した。抗 GBM 腎炎モデルは、ヤギ抗ラット GBM 血清の静脈内投与の翌日にヤギ γ グロブリンを foot pad に投与することで作製した。TJN-331 は腎炎惹起後 21 日目から 41 日目まで投与し、経時的に尿中タンパク排泄量を測定した。また、41 日目に腎臓を摘出し、光学顕微鏡にて病理観察を行なった。

その結果、TJN-331 は 30 日目から 41 日目において尿中タンパク排泄量の増加を有意に抑制した。また、TJN-331 は半月体形成ならびに癒着の指数を有意に低下させ、TGF- β 1 陽性領域の増加を顕著に抑制した。しかし、対照薬として用いた dipyridamole は、尿中タンパク排泄量増加ならびに病理変化に対して有意な改善効果を示さなかった。これらの結果から、TJN-331 は腎不全に至る重篤な腎炎モデルに対しても尿中タンパク排泄量ならびに病理学的な改善効果を有することが判明した。

総括：

本研究より、TJN-331 は IgA 腎症モデル、抗 Thy-1 腎炎モデル、ならびに抗 GBM 腎炎モデルにおいて、その病態の改善に有効性を示し、糸球体での TGF- β 1 産生あるいは活性化を抑制した。これらの結果から、TJN-331 は TGF- β 1 阻害作用を有した抗腎炎化合物である可能性が示唆され、臨床応用が期待される。