



Title	分岐鎖アミノ酸および蛋白質負荷が常染色体優性多発性嚢胞腎の嚢胞形成に与える影響の解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	山本, 準也
Description	配架番号 : 2241
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12137号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61947
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Junya_Yamamoto_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 山本 準也

主査 教授 篠原 信雄
審査担当者 副査 教授 渡邊 雅彦
副査 教授 水上 尚典
副査 教授 野口 昌幸

学 位 論 文 題 名

分岐鎖アミノ酸および蛋白質負荷が

常染色体優性多発性嚢胞腎の嚢胞形成に与える影響の解析

(Studies on effects of branched-chain amino acids and dietary protein loading on
cyst development of autosomal dominant polycystic kidney disease)

常染色体優性多発性嚢胞腎(ADPKD)は腎臓を主体とした嚢胞形成と進行性の嚢胞増大を特徴とする遺伝性腎疾患である。ADPKD では ERK/MAPK 経路および mTOR 経路等の活性化が認められる。本研究ではアミノ酸または蛋白質の負荷が ADPKD の嚢胞形成や病態にどのような影響を与えるか調べることにした。

第一章では分岐鎖アミノ酸(BCAA)が ADPKD の嚢胞形成に与える影響を検討するために、In vivo では polyinosinic-polycytidylic acid(pI-pC)による *Pkd1* コンディショナルノックアウトマウスの *Pkd1^{flox/flox}: Mx1-Cre* マウスに対して BCAA の投与を行い、腎および肝の嚢胞増大、mTOR および ERK/MAPK 経路の活性化が認められた。In vitro ではマウス由来 *Pkd1* ホモ欠失尿細管上皮細胞に対してロイシンを負荷し、細胞増殖促進、mTOR および ERK/MAPK 経路の活性化が認められた。ロイシンによる細胞増殖は mTOR 阻害薬および ERK/MAPK 阻害薬により減弱された。第二章では *Pkd1^{flox/flox}: Mx1-Cre* マウスを用いて飼料の蛋白質量を増減することで生じる変化を解析した。高蛋白質食は腎および肝の嚢胞増大、組織線維化進行を惹起したが、低蛋白質食は嚢胞増大抑制、組織線維化抑制効果を示さなかった。

審査では、副査の渡邊教授より①、②の質問があった。①マウスの *Pkd1* 遺伝子ノックアウト率の評価をしているか、という質問に対して、ノックアウト率の確認はしていないが、既報ではサザンブロッティングにて *Pkd1* の loxP で挟まれた exon2-4 が欠失することを確認していること、ノックアウト率のばらつきを抑えるために、pI-pC の投与量、投与時期、投与方法を統一していると回答した。しかし、今後ノックアウト率の客観的な評価方法の確立が必要とされた。②尿細管細胞に負荷したロイシン濃度に対して、解剖時のマウス血液ロイシン濃度が低値である点はどう考えるか、という質問に対して、ロイシンの半減期

は短く、マウスが BCAA を摂取してから、血液検体を得るまで時間が経過したため、低値となった可能性がある」と回答した。副査の水上教授より③、④の質問があった。③ヒト ADPKD において蛋白質負荷と嚢胞増大の関連の既報の有無の質問に対して、蛋白質負荷群を設定して比較した報告はなく、腎機能悪化および透析導入をエンドポイントとしており、嚢胞サイズでは評価していないと回答した。しかし、現在は嚢胞サイズに相当する指標である総腎容積を CT ないし MRI で計測できるため、今後蛋白質調整食の研究を行う際に総腎容積を評価することは可能であると述べた。④第二章においてマウスの食事群別の生存率を評価しているか、という質問に対して、2 週齢時の pI-pC 投与による薬剤誘導では嚢胞形成が緩徐に起こるため、死亡に至るまで時間を要すると述べたが、今後 pI-pC を投与するタイミングを 1 週齢に変更し、嚢胞形成を早めて、生存率を評価することを推奨された。副査の野口教授より⑤～⑦の質問があった。⑤繊毛から ERK/MAPK 経路等に至るまでのシグナル経路についての質問に対しては、PC1/PC2 の異常による直接の影響は細胞の cyclic AMP 上昇であり、二次的に ERK/MAPK 経路が活性化されると回答した。⑥mTOR 阻害薬の ADPKD における有効性についての質問があり、PKD モデルでは有効性を示すものが多いが、ヒトでの有効性に関しては議論が分かれていると回答した。⑦In vitro において mTOR 阻害薬と ERK/MAPK 阻害薬の併用は試みたか否か、という質問に対して、mTOR 阻害薬と ERK/MAPK 阻害薬の併用に相乗効果が認められ、ヒト ADPKD でも mTOR 阻害薬と ERK/MAPK 阻害薬の併用が有効である可能性があると回答した。主査の篠原教授より⑧、⑨の質問があった。⑧ADPKD の予後因子についての質問があり、一例として *PKD1* 変異と *PKD2* 変異の患者の比較では、*PKD2* 変異の方が腎予後は良好であると回答した。⑨将来的なヒトにおける BCAA 制限の可能性の質問に対して、単純な BCAA 制限は BCAA が持つ全身への多面的な作用を損なう懸念と BCAA は蛋白質の一部として摂取されるので選択的に制限するのは難しいと考えていることを伝え、今後の課題であると回答した。

この論文は ADPKD における BCAA 摂取および蛋白質過剰摂取の有害性を示唆しており、ADPKD 患者における望ましい栄養摂取のあり方の提言につながる事が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。