

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 中 垣 祐

学位論文題名

常染色体優性多発性嚢胞腎モデルマウスを用いた降圧薬投与実験及び腎内 RAS 関与についての解析

【背景と目的】常染色体優性遺伝性多発嚢胞腎 (Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease : ADPKD) は遺伝性腎疾患の中で最も頻度が多く、加齢とともに嚢胞が増加し、70 才までに約半数が腎不全に陥るとされる。原因遺伝子として *PKD1* と *PKD2* が同定され、各々の遺伝子産物であるポリシスチン 1、ポリシスチン 2 はともに腎の上皮細胞の繊毛に局在する。尿流を感知する受容体であるポリシスチン 1 からの刺激がカルシウムチャネルを有するポリシスチン 2 へ伝達され、尿細管および集合管細胞内にカルシウムイオンが流入することにより、尿細管径の調節が行われる。ADPKD では、ポリシスチン 1、2 のどちらかの機能が喪失すると、径の調節ができず、嚢胞が形成される。また ADPKD 細胞では細胞内 Ca 濃度低下により細胞増殖カスケードが活性化され、嚢胞形成が促進されると考えられており、カルシウムチャネル拮抗薬 (Calcium Channel Blocker : CCB) 投与が嚢胞進行に悪影響を与える可能性が示唆されている。ADPKD における高血圧の合併は約 50~80%に見られ、高血圧は腎機能障害の要因となることが知られている。レニン・アンジオテンシン系 (Renin-Angiotensin-system : RAS) の関与が示唆されているが、血圧と血漿レニン活性との相関は示されておらず、発症メカニズムは明らかではない。一方で、ADPKD に対する RAS の亢進は、腎嚢胞増殖の成因となる可能性や、腎間質の線維化をもたらす独立した因子である可能性が示唆されている。近年、RAS にかかわる関心は、全身 RAS から局所 RAS に向かっており、腎臓内における組織 RAS (腎内 RAS) の重要性が証明されている。最近の報告では、腎内 RAS 活性のバイオマーカーとして、アンジオテンシノーゲン (Angiotensinogen : AGT) の尿中排泄量が指標となることが示されている。本研究においては、降圧薬投与による嚢胞形成への影響を調べるとともに、新しい病態概念である腎内 RAS との関わりについて調べることを目的とし、*Pkd1* コンディショナルノックアウトマウスを用いて降圧薬の投与実験を行った。

【材料と方法】本研究では、IFN 誘導体である polyinosinic-polycytidylic acid (pI-pC) によってノックアウトされる、薬剤誘導型 *Pkd1* コンディショナルノックアウトマウス (*Pkd1* flox/flox; *Mx1-Cre* mice) を作製し、使用した。生後 14 日目からの pI-pC 投与によって最も安定した表現型が得られており、治療薬投与実験が可能なヒト ADPKD のモデル動物として適している。降圧薬投与としては、表現型が野生型である Control 群、溶媒のみの Vehicle 群、CCB 投与群 (Amlodipine 群)、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) 投与群

(Olmesartan 群)、直接的レニン阻害薬 (DRI) 投与群 (Aliskiren 群)、の 5 群に分けて解析を行った。薬剤投与方法は、浸透圧ミニポンプを使用し、合計 12 週間の投与を行った。血圧は 2 週毎に tail-cuff 法を用いて測定した。22 週で屠殺し、腎 (肝) 重量・体重比, Cystic Index を測定した。また、BUN, 尿中アルブミン排泄量, 線維化についての病理組織学的検討, 細胞増殖及びアポトーシスについて検討を行った。更に、尿中 AGT 排泄量の測定, 免疫組織学的検査による AGT, アンジオテンシン II, レニンの発現など, 腎内 RAS の関与について解析を行った。

【結果】血圧推移は、Amlodipine 群, Olmesartan 群, Aliskiren 群で、いずれも Vehicle 群と比較し、有意かつ同等な降圧効果を示した。腎重量・体重比, Cystic Index (腎) は、薬剤投与群において Aliskiren 群で最も小さく、BUN, 尿アルブミン排泄についても Aliskiren 群で有意差を持って低値を示していた。一方、肝臓については、肝重量・体重比, Cystic Index いずれも、薬剤投与群間で差は認めなかった。腎間質の線維化としては、 α SMA (smooth muscle actin) 染色, 及び Elastica-Masson 染色にて、Olmesartan 群と Aliskiren 群で、有意な線維化抑制を認めた。PCNA (proliferative cell nuclear antigen) 染色による細胞増殖は、Olmesartan 群と Aliskiren 群で有意に抑制され、アポトーシスは、TUNEL

(terminal dUTP nick-end labeling) 染色にて、Olmesartan 群と Aliskiren 群で、有意に抑制されていた。ウエスタンブロッティングを用いた、細胞増殖因子の蛋白発現量についても、Olmesartan 群と Aliskiren 群で有意に減少していた。尿中 AGT 排泄量は、Aliskiren 群で有意差を持って低値を示しており、AGT, アンジオテンシン II, レニンの免疫組織学的検査においても、Aliskiren 群で最も染色が抑制されている傾向が示された。

【考察】ADPKD の高血圧では RAS 阻害薬が第一選択ではあるが、しばしば ADPKD 患者では十分な降圧が得られないため、CCB 等の多剤の併用療法が必要となる。本研究の結果、今回の観察期間においては、CCB は嚢胞形成や腎機能に悪影響を及ぼさない可能性が示されたため、ARB のみでは十分な降圧が得られない ADPKD 患者に対しては、選択肢として CCB も念頭に入れて治療を進めていく必要があるものと考えられた。また尿中 AGT 排泄量が増加しており、ADPKD の病態に腎内 RAS が関与している可能性が示唆された。更に DRI 投与によって尿中 AGT 排泄量が有意に減少し、AGT, アンジオテンシン II, レニンの発現も抑制されていたことから、DRI が腎内 RAS を抑制し得る可能性が示唆された。DRI 投与によって腎臓における嚢胞形成が抑制され、かつ腎機能及び尿アルブミン排泄の悪化を抑制し得た背景には、腎内 RAS が関与している可能性が示唆された。

【結論】本研究では、腎内 RAS が ADPKD の病態に深く関わっている可能性が示唆された。また、ADPKD の最大の特徴である嚢胞形成にも腎内 RAS が関わっている可能性が示され、今後の更なる解明が必要であると考えられる。更に、直接的レニン阻害薬 (DRI) の ADPKD に対する嚢胞形成抑制という可能性についても見出すことができ、今後は、腎内 RAS の新しい知見を踏まえ、降圧薬の選択にもエビデンスレベルで言及し、確立していくことが重要であると考えられる。