

2011. 7

特集号



国立大学法人 高知大学学報

(題字：相良祐輔学長)

高知大学学位授与記録第四十八号

法人企画課広報戦略室発行

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、高知大学学位規則第15条に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

 *
 *
 *
高知大学学報
 *
 *
 *

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

目 次

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
甲医博第133号	森田 拓	Conditional <i>VHL</i> gene deletion activates a local NO-VEGF axis in a balanced manner reinforcing resistance to endothelium-targeted glomerulonephropathy (時期特異的VHL遺伝子ノックダウンは局所NO-VEFG系を両者バランスよく亢進させ、内皮細胞を標的とした糸球体腎症の発症を抑制する)	1

氏名(本籍)	森田 拓 (大阪府)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲医博第133号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成23年4月28日
学位論文題目	Conditional <i>VHL</i> gene deletion activates a local NO-VEGF axis in a balanced manner reinforcing resistance to endothelium-targeted glomerulonephropathy (時期特異的VHL遺伝子ノックダウンは局所NO-VEFG系を両者バランスよく亢進させ、内皮細胞を標的とした糸球体腎症の発症を抑制する)
発表誌名	Nephrology Dialysis Transplantation(in press)

審査委員	主査	教授	寺田	典生
	副査	教授	李	康弘
	副査	教授	杉浦	哲朗

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

氏名 森田 拓

Conditional *VHL* gene deletion activates a local NO-VEGF axis in a balanced manner reinforcing resistance to endothelium-targeted glomerulonephropathy.

論文題目

(時期特異的 *VHL* 遺伝子ノックダウンは局所 NO-VEGF 系を両者バランスよく亢進させ、内皮細胞を標的とした糸球体腎症の発症を抑制する)

(論文要旨)

(背景及び目的)我々は虚血再灌流による尿細管上皮細胞障害が、時期特異的に、すなわち後天的な von Hippel-Lindau protein ノックアウトマウス (*VHL* KO) において抑制されることを報告した。そして hypoxia-inducible factor を誘導させることにより、アンジオテンシン II で障害の程度をさらに増幅させたラットハブ毒糸球体腎症も抑制されることを報告した。しかし *VHL* ノックダウンが、内皮細胞を標的とした糸球体腎症において内皮細胞を保護し、障害程度を軽減させるかどうかは明らかではなかった。

(方法と結果)ハブ毒投与において、コントロールマウスに比べ *VHL*KO では障害糸球体数は少なく、mesangiolysis スコア、尿素窒素も有意に低値であった。傾向としてクレアチニンも低値を示した。またハブ毒はヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞での vascular endothelial growth factor (VEGF) 蛋白発現を抑制させ、*VHL* 蛋白発現を増加させた。一方、*VHL* KO でも同様に糸球体毛細血管 VEGF 蛋白発現は増加した。この時腎糸球体内皮細胞と尿細管細胞で一酸化窒素 (NO) 産生が増加していたことから、腎臓における NO の産生増加は蛋白発現が増加した VEGF に起因する、すなわち NO-VEGF 系の活性化が関与することが示唆された。コントロールマウスに NO-donor S-nitroso-N-acetyl-DL-penicillamine (SNAP) を投与してもハブ毒腎症は軽減した。逆に、

の VHL KO 保護作用は完全に抑制された。このことから、VHL KO におけるハブ毒腎症に対する保護作用は、糸球体と尿細管由来 NO が関与しているものと考えられた。

VHL KO での腎における NO-VEGF 系の活性化の結果として VEGF 受容体 Flk-1 のリン酸化と IL-10、IP-10 の発現が増加しており、いずれも VHL KO ではこの系が活性化していることが示唆された。

(結論) 時期特異的 VHL ノックダウンは、NO-VEGF 系を亢進させ血管内皮細胞を標的とする代表的腎症モデルであるハブ毒腎症から糸球体内皮細胞を保護する可能性があることが示唆された。これまでの当該研究結果から、VHL ノックダウンは腎尿細管上皮細胞および糸球体内皮細胞への組織障害性に対する耐性を亢進させることが示唆された。しかし長期的な VHL ノックダウンの個体への影響は、不明な点が多く今後検討予定である。

論文審査の結果の要旨

	氏 名	森 田 拓
審 査 委 員	主 査 氏 名	寺 田 典 生 
	副 査 氏 名	李 康 弘 
	副 査 氏 名	杉 浦 哲 朗 

題 目 Conditional *VHL* gene deletion activates a local NO-VEGF axis in a balanced manner reinforcing resistance to endothelium-targeted glomerulonephropathy
 (時期特異的 VHL 遺伝子ノックダウンは局所 NO-VEGF 系を両者バランスよく亢進させ、内皮細胞を標的とした糸球体腎症の発症を抑制する)

著 者 Taku Morita, Yoshihiro Kakinuma, Atsushi Kurabayashi, Mikiya Fujieda, Takayuki Sato, Taro Shuin, Mutsuo Furihata, Hiroshi Wakiguchi

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
 Nephrology Dialysis Transplantation (in press)

要 旨

【背景・目的】現在血液透析患者数は、全国で30万人を越え、さらに増加の一途をたどっている。糸球体腎炎を含め糸球体疾患への病態解明による新規治療法の開発は急務である。近年腎疾患で NO-VEGF 系の病態への関与と内皮細胞の重要性が注目されているが、その意義が解明されれば糸球体腎炎の治療の一助となることが期待される。

今回申請者は後天的な von Hippel-Lindau protein ノックアウトマウス (VHL KO)を用いて、糸球体腎炎における NO-VEGF 系の病態への関与を検討した。申請者らは以前より、虚血再灌流による尿細管上皮細胞障害が、時期特異的な VHL KO において抑制されることを報告した。そして hypoxia-inducible factor を誘導させることにより、アンギオテンシン II で障害の程度をさらに増幅させたラットハブ毒糸球体腎症も抑制されることを報告した。しかし VHL ノックダウンが、内皮細胞を標的とした糸球体腎症において内皮細胞を保護し、障害程度を軽減させるかどうかは明らかではなかった。今回 VHL ノックダウンが、内皮細胞を標的とした糸球体腎症の病態にどのように関与するかを検討した。

【方法と結果】

ハブ毒投与において、コントロールマウスに比べ VHL KO では障害糸球体数は少なく、mesangiolysis スコア、尿素窒素も有意に低値であった。傾向としてクレアチニンも低値を示した。またハブ毒はヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞での vascular endothelial growth factor(VEGF)蛋白発現を抑制させ、VHL 蛋白発現を増加させた。一方、VHL KO でも同様に糸球体毛細血管 VEGF 蛋白発現は増加した。この時腎糸球体内皮細胞と尿細管細胞で一酸化窒素 (NO) 産生が増加していたことから、腎臓における NO の産生増加は蛋白発現が増加した VEGF に起因する、すなわち NO-VEGF 系の活性化が関与することが示唆された。コントロールマウスに NO-donor S-nitroso-N-acetyl-DL-penicillamine (SNAP) を投与してもハブ毒腎症は軽減した。逆に、NOS 合成阻害薬 N-nitro-L-arginine (L-NNA) を前処置した VHL KO では、ハブ毒腎症に対する VHL KO 保護作用は完全に抑制された。このことから、VHL KO におけるハブ毒腎症に対する保護作用は、糸球体と尿細管由来 NO が関与しているものと考えられた。

VHL KO での腎における NO-VEGF 系の活性化の結果として VEGF 受容体 Flk-1 のリン酸化と IL-10、IP-10 の発現が増加しており、いずれも VHL KO ではこの系が活性化していることが示唆された。

【結論】

時期特異的 VHL ノックダウンは、NO-VEGF 系を亢進させ血管内皮細胞を標的とする代表的腎症モデルであるハブ毒腎症から糸球体内皮細胞を保護する可能性があることが示唆された。これまでの当該研究結果から、VHL ノックダウンは腎尿細管上皮細胞および糸球体内皮細胞への組織障害性に対する耐性を亢進させることが示唆された。しかし長期的な VHL ノックダウンの個体への影響は、不明な点が多く今後検討予定である。

本論文は、VHL ノックダウンは、NO-VEGF 系を亢進させ血管内皮細胞を標的とする腎症モデル糸球体内皮細胞を保護する可能性を示したものといえ、本研究の発展により糸球体腎炎の治療薬開発に繋がる可能性がある。よって、本論文は、高知大学博士 (医学) に値すると判断した。