

(第7号様式)

学位論文審査結果の要旨

氏名	谷野 彰子
審査委員	主査 堀内 正嗣 副査 雑賀 隆史 副査 北澤 理子 副査 加藤 英政 副査 東 太地

論文名

腎線維化抑制の新たな治療ターゲットとしてのインターロイキン(IL)-18:
アルドステロン-食塩負荷マウスにおいて、IL-18 欠損は腎間質線維化を抑制する
審査結果の要旨

【背景】

IL-18はマクロファージ、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、尿細管細胞などの細胞で産生されるIL-1ファミリーに属するサイトカインで、腎虚血再還流障害、移植腎拒絶、自己免疫疾患などの炎症性腎疾患の病態形成に関与している。

アルドステロンはミネラルコルチコイド受容体 (MR) に結合し、体内のナトリウムやカリウムの調整において中心的な役割を果たしている。アルドステロンの過剰は腎臓の線維化を引き起こすことが報告されている。申請者らの教室ではこの腎線維化にオステオポンチン (OPN) が重要な役割を果たしていることを報告している。

心筋においてはアルドステロンがIL-18の産生を促進し、さらにIL-18がOPNを誘導することが報告されている。本研究ではアルドステロンにより誘導される腎線維化におけるIL-18およびOPNの役割に関して検討をおこなった。

【方法】

アルドステロン-食塩負荷マウスモデルとして8週齢雄性の野生型マウス(WT)またはIL-18ノックアウトマウス(IL-18KO)の左腎摘出後、浸透圧ポンプにてアルドステロンを投与、普通餌、1%食塩水で4週間飼育した。4週間後にテイルカフ法で血圧測定を行い、血液、尿、腎臓を採取し、組織学的変化、遺伝子発現、蛋白発現について両マウスで比較した。

細胞レベルの実験として、ラット尿細管上皮細胞 (NRK-52E cells) の培養液中にアルドステロンの添加あるいはアルドステロンと MR 拮抗薬であるスピロノラクトンの添加を行った。またラット線維芽細胞 (NRK-49F cells) の培養液中にリコンビナント IL-18 (rIL-18) の添加を行なった。

【結果】

WT アルドステロン-食塩負荷群では血圧の上昇を認めたが、IL-18KO アルドステロン-食塩負荷群では血圧の上昇を認めなかった。WT アルドステロン-食塩負荷群で糸球体の拡大を認め、IL-18KO アルドステロン-食塩負荷群でも同様の变化を認めた。尿細管間質病変について、WT アルドステロン-食塩負荷群においてマッソントリクロム染色で腎間質に高度の線維化を認めたが、IL-18KO アルドステロン-食塩負荷群においては間質線維化が抑制されていた。免疫組織染色による検討で、WT アルドステロン-食塩負荷群では腎間質にマクロファージの浸潤 (F4/80)、および線維芽細胞 (FSP-1) の浸潤、集積を認め、尿細管での IL-18 の発現増加を認めたが、IL-18KO アルドステロン-食塩負荷群ではその浸潤、集積、発現増加は抑制されていた。線維化関連因子である I 型コラーゲン、III 型コラーゲン遺伝子の発現を腎皮質 Total RNA を用い、リアルタイム RT-PCR 法で解析した。I 型、III 型コラーゲンともに WT アルドステロン-食塩負荷群では増加し、IL-18KO アルドステロン-食塩負荷群ではその発現は有意に抑制された。腎臓の線維化との関連が強く報告されている OPN についてもリアルタイム RT-PCR 法、ウェスタンブロット法および免疫組織染色で遺伝子発現、蛋白発現を検討したところ、WT アルドステロン-食塩負荷群において遺伝子発現増加、尿細管での蛋白発現増加を認めたが、IL-18KO アルドステロン-食塩負荷群ではその発現増加は抑制されていた。血中、腎皮質中 IL-18 を、ELISA 法、および免疫組織染色で蛋白発現を検討したところ、WT アルドステロン-食塩負荷群は WT と比較して腎皮質での蛋白発現増加を認めた。血中の IL-18 蛋白発現には両群で差は認めなかった。尿細管細胞による検討ではアルドステロンによって直接的に IL-18 の発現が誘導され、この作用は MR 拮抗薬であるスピロノラクトンの添加により阻害された。腎線維芽細胞に rIL-18 の添加を行なっても I 型、III 型、IV 型コラーゲンおよび OPN は誘導されなかった。

【結論】

IL-18 は OPN を介してアルドステロンによる腎線維化を制御していると考えられ、IL-18 は腎線維化進展抑制治療のターゲットとなりうる可能性が示唆された。

本論文の公開審査は、平成 28 年 12 月 20 日に開催された。谷野 彰子 氏による研究発表の後、主査、副査により、IL-18KO アルドステロン-食塩負荷群では血圧上昇が認められない原因、及びその影響、レニン・アンジオテンシ・アルドステロン系の変化、組織学的検討方を含めた詳細な実験条件、臨床応用を含めた研究の将来展望などについて多くの質問がなされた。

申請者は、これらに対し、いずれにも的確に回答した。従って、審査委員会は全員一致して、本研究が学位授与に値するものと判定した。