

## 論文の内容の要旨

氏名：大 月 正 理

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：コモンマーモセットにおける腎線維化モデルの確立とヒト TGF- $\beta$ 1 に対する遺伝子制御化合物  
ピロール・イミダゾールポリミアドの基礎的検討

進行性腎障害の病態の中心である腎線維化は尿細管の上皮間葉化（Epithelial Mesenchymal Transition :

EMT)、細胞外基質の増生、線維芽細胞の浸潤で、transforming growth factor - beta1 (TGF- $\beta$ 1) が責任

分子である。

ピロール・イミダゾール (PI) ポリアミドは、DNA 認識抗生物質から見いだされた中分子ペプチド化合物で、DNA の塩基配列に特異的に結合する。これまで線維性疾患の治療薬の創薬開発を目的として TGF- $\beta$ 1 のプロモーター領域を標的とした PI ポリアミドの有効性が確認されたが、ヒト TGF- $\beta$ 1 に対する PI ポリアミドの創薬開発に向けて、前臨床試験としてよりヒトゲノムに近い霊長類を使用して検証する必要があり、ヒトのゲノム構造に相同性の高いコモンマーモセットを用いた検証を公益財団法人・実験動物中央研究所との共同研究として行うこととした。コモンマーモセットを用いた先行研究として皮膚肥厚性癬痕に対するヒト TGF- $\beta$ 1 PI ポリアミドの局所投与の検討が行われ有効性が確認された。次ぐ本研究では、新たな腎線維化モデルとしてコモンマーモセットのシクロスポリン腎症モデルと片側尿管結紮術

(Unilateral ureteral obstruction : UUO) 水腎症モデルを作製し、ヒト TGF- $\beta$ 1 PI ポリアミドが腎線維化を抑制する可能性があるかどうかを検討した。

シクロスポリン腎症モデルでは、まず腎症作製のためのシクロスポリンの投与量を検討した。しかし、低用量では腎臓に組織学的な変化は認められず、用量を増量した場合では横紋筋融解症や高血糖などシクロスポリン投与によると思われる副作用が出現し実験を中断せざるを得ず、腎症モデル作製に適した用量を見出すことはできなかった。また、シクロスポリン投与による副作用の出現と腎臓の組織学的変化の有無には関連がなく、その原因として Wasting marmoset syndrome が考えられ、個体間での比較となるシクロスポリン腎症モデルによるヒト TGF- $\beta$ 1 PI ポリアミドの薬効評価は困難と判断した。UUO 水腎症モデルは、結紮術施行から 3 週間経過すると腎臓の線維化が生じた。自然発症の Wasting marmoset syndrome を考慮すると、同一個体で非結紮側と結紮側を比較できるため薬効の多角的な評価が可能で、ヒト TGF- $\beta$ 1 PI ポリアミドの効果を評価する腎線維化モデルとして適切だと判断した。

そこで、UUO 水腎症モデルを用いてヒト TGF- $\beta$ 1 PI ポリアミドの基礎的検討を行った。UUO 水腎症モデル作製から 1 週間後より、ヒト TGF- $\beta$ 1 PI ポリアミドを経静脈的に投与した。その後、摘出した腎臓を用いて、Hematoxylin Eosin 染色、Masson Trichrome 染色から得られた糸球体障害スコア (Glomerular injury score : GIS) や間質障害スコア (Tubulointestinal injury score : TIS)、TGF- $\beta$ 1、E-cadherin、 $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) の免疫染色による組織学的検証を行った。また、リアルタイム Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) で TGF- $\beta$ 1 の mRNA (*transforming growth factor beta1*, *TGFB1* mRNA) の発現や EMT や線維化に関与する Snail の mRNA (*snail family transcriptional repressor 1*, *SNAI1* mRNA) の発現、 $\alpha$ -SMA の mRNA (*actin, alpha 2, smooth muscle, aorta*, *ACTA2* mRNA) の発現も評価した。その結果、ヒト TGF- $\beta$ 1 PI ポリアミド投与群は TIS が有意に低下していた。GIS や *TGFB1* mRNA、*SNAI1* mRNA、*ACTA2* mRNA は、実験に使用できた個体数が少ないことや個体差が大きいことから統計学上有意な差は得られなかったが、ヒト TGF- $\beta$ 1 PI ポリアミド投与群で線維化を抑制する可能性を認め、ヒト TGF- $\beta$ 1 PI ポリアミドはヒトに近い霊長類であるコモンマーモセットの腎線維化モデルにおいて有効な可能性があると考えられた。また、PI ポリアミドは最大 4 週間の投与期間では有害事象を認めず、安全に投与可能であることもわかった。今後は進行性腎障害に対する実地医薬として創薬開発を更に進めていく。