

論文の内容の要旨

氏名：岡 村 真喜誉

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：糖尿病性腎症の進展に対する転写因子 USF1 PI ポリアミドの効果

糖尿病性腎症の病態には Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) が深く関与し腎臓の線維化を促進することが知られている。本研究では、TGF- β 1 遺伝子のプロモーターである Upstream stimulatory factor 1 (USF1) 結合領域に結合し TGF- β 1 遺伝子の発現を抑制する USF1 Pyrrole Imidazole (PI) ポリアミドを用いて、糖尿病性腎症の抑制効果を検討した。in vitro の培養メサンギウム細胞の実験では、25mM の高糖刺激により TGF- β 1 のプロモーター活性の増加と mRNA 発現亢進を認めた。まず、4 種類の USF1 PI ポリアミド (PI ポリアミド 1~4) を設計・合成したところ、 10^{-10} M PI ポリアミド 3 においてのみプロモーター活性及び mRNA の抑制効果を確認、TGF- β 1 遺伝子の転写を抑制する事が確認された。この結果から USF1 PI ポリアミド 3 を以降の実験で使用することとした。高糖刺激により TGF- β 1 蛋白発現は有意に上昇し、 10^{-10} M PI ポリアミド 3 投与で TGF- β 1 蛋白発現を有意に抑制した。次に、培養メサンギウム細胞において、高糖刺激により USF1 mRNA に有意な変化はみられなかった。しかし高糖刺激 24 時間後では核内における USF1 の蛍光免疫染色が増強し、USF1 が核へ移行した事が示された。また高糖刺激において細胞内より核内で USF1 蛋白量が多くみられた。この結果より、高糖刺激で USF1 が細胞質から核内へ移行し、転写を促進させていることが示唆された。in vivo の実験では、ストレプトゾトシン (Streptozotocin: STZ) 投与により作成された糖尿病モデルラットの病態に対する USF1 PI ポリアミドの薬剤効果を検討した。糖尿病ラットにおいて尿中アルブミン排泄量は、16 週経過時には明らかな増加を認めた。腎臓組織学的変化としては、メサンギウム細胞増殖、間質線維化や尿細管萎縮もみられ、腎臓組織傷害が進行していた。糸球体障害指数 (Glomerular injury scores: GIS) ・尿細管間質障害指数 (Tubular injury scores: TIS) についても有意な障害が認められた。また Western blot 法と免疫染色法で、糖尿病ラット腎臓組織内の TGF- β 1 発現が亢進していることが確認された。次に、糖尿病モデルラットに対しては糖尿病発症直後から 1mg/kgBW/週 2 回の USF1 PI ポリアミドの腹腔内投与を行った。その結果、糖尿病ラットと比較したところ、16 週後の尿中アルブミン排泄量は低下し、びまん性病変や間質線維化においても程度は軽度であり、GIS ・ TIS による障害の程度も有意に低下していた。また免疫染色において TGF- β 1 は糸球体や近位尿細管に局在していたが、糖尿病ラットと比較して発現亢進は抑制されていた。Western blot 法で腎臓組織内の TGF- β 1 発現の有意な低下が認められた。以上の結果より、高糖刺激による培養メサンギウム細胞の TGF- β 1 発現増加、TGF- β 1 プロモーター活性の増加に対して、USF1 PI ポリアミド 3 の投与は抑制効果を示した。また、糖尿病モデルラットにおいても、糸球体病変及び間質病変を USF1 PI ポリアミド 3 は抑制した。USF1 PI ポリアミド 3 は将来、糖尿病性腎症の治療薬となりうる事が示唆された。