

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	植竹 龍一
論文審査担当者	主 査 樋口 京一 副 査 谷口 俊一郎 ・ 菅野 祐幸
論文題目	Adrenomedullin-RAMP2 system suppresses ER stress-induced tubule cell death and is involved in kidney protection (アドレノメデュリン-RAMP2 システムは、小胞体ストレス誘導性細胞死を抑制し、腎保護に働く)
(論文の内容の要旨)	
〔背景と目的〕 アドレノメデュリン(AM)は、様々な生理活性を有するペプチドである。AM 受容体 CLR には、受容体活性調節タンパク質 RAMP が重合し、受容体特性を制御している。我々はこれまでに RAMP サブアイソフォームの中でも、RAMP2 ノックアウトマウス(RAMP2 ^{-/-})のみが、AM ^{-/-} の発生異常や臓器障害を再現することを報告してきた。AM および RAMP2 は、腎臓においても発現しており、血管、糸球体、尿細管などに広く分布する。また近年、血中 AM 濃度が慢性腎臓病の長期予後予測の上で、最も感受性の高いパラメータとなることが報告されており、腎不全の病態に AM-RAMP2 系が関与していることが示唆されている。本研究では、RAMP2 ^{+/-} を用いて、腎臓病モデルを作成し、AM-RAMP2 系の腎臓における生理作用を検討した。	
〔材料及び方法〕 ①RAMP2 ^{+/-} を用いてストレプトゾトシン(STZ)投与による I 型糖尿病モデルを作成し、糖尿病性腎症における AM-RAMP2 系の役割を検討した。②ヒト近位尿細管上皮細胞(RPTEC)を用いて尿細管細胞に対する STZ の直接の作用と AM の保護効果を検討した。③RAMP2 ^{+/-} を用いて小胞体(ER)ストレスを直接惹起する薬剤であるツニカマイシン(TUN)を投与して、ER ストレスに対する AM-RAMP2 系の役割を検討した。④野生型マウスおよび RAMP2 ^{+/-} を用いて浸透圧ポンプにより AM を持続投与する実験を行い、TUN 投与による腎障害に対する AM の治療効果を検討した。⑤RAMP2 ^{+/-} を用いて尿細管障害を引き起こす薬剤であるシスプラチン(CDDP)を投与して尿細管障害に対する AM-RAMP2 系の役割を検討した。	
〔結果〕 STZ モデルにおいて RAMP2 ^{+/-} では、野生型と比較し、糸球体病変に変化を認めなかったが、予想外に近位尿細管に刷子縁の破綻を伴う細胞死が特徴的に認められた。 RPTEC を用いた検討では、RPTEC には、グルコース類似物質である STZ を特異的に取り込むトランスポーターである GLUT2 が発現しており、STZ 投与により小胞体(ER)ストレスセンサータンパク質の一つである PERK が活性化された。一方、RPTEC に AM を投与すると、PERK 下流因子である CHOP の活性化が抑制され、細胞死が抑制された。 TUN モデルにおいて RAMP2 ^{+/-} では、尿細管細胞の空胞化と、ER ストレスにより誘導される因子である BiP、CHOP の発現上昇を認めた。 AM による治療実験では、AM を投与した野生型マウスでは TUN により引き起こされた尿細管細胞の空胞化と BiP、CHOP の発現上昇が抑制された。一方、RAMP2 ^{+/-} を用いて AM による治療実験を行ったところ、野生型マウスに対し AM を投与した時に認められた腎障害の軽減効果は認められなかった。 CDDP 投与モデルにおいて RAMP2 ^{+/-} では、血清尿素窒素(BUN)やクレアチニンの上昇といった腎機能の低下を示す所見が認められ、尿細管細胞の異常も確認された。また、この時の遺伝子発現を検討したところ RAMP2 ^{+/-} では、細胞死を誘導する因子(p53、Bax)の発現上昇が認められ、さらに炎症性サイトカインやケモカイン(TNF- α 、MCP-1)の発現上昇、酸化ストレスマーカー(NADPH オキシダーゼサブユニット：p67、p47)の発現上昇、ER ストレスマーカー(BiP、CHOP)の発現上昇も確認された。	
〔結論〕 以上の結果から、AM-RAMP2 系は、腎臓において炎症、酸化ストレス及び ER ストレスの過剰な活性化を抑制し、臓器保護的に働いていることが明らかとなった。	