

公募助成「腎不全病態研究助成」研究サマリー

研 究 名	Apelinergic system の腎線維化と内因性 Epo 産生能に及ぼす影響の解析
所 属 機 関	京都府立医科大学大学院医学研究科 小児科学
氏 名	西田 眞佐志
<p>【目的】 Apelinergic system は 1993 年に G 蛋白質共役型受容体として同定された APJ 受容体を介する system で、ligand として Apelin および Elabela が発見され、血管内皮細胞を介する NO 産生や血管新生による腎微小循環および低酸素の改善により、腎線維化の進展において腎保護的に作用する。さらに腎血管周囲線維芽細胞とオーバーラップした細胞群と考えられる血管内皮細胞周囲 pericyte にも APJ 受容体の発現が認められ、同時に腎線維化の進展過程においては腎線維芽細胞と同起源である内因性エリスロポエチン (Epo) 産生細胞が α SMA 陽性 myofibroblast に形質転換することにより、Epo 産生能が低下することが明らかになっている。以上の背景より、Apelinergic system の血管内皮細胞周囲 pericyte を介する作用により、その myofibroblast への形質転換を抑制すると同時に、内因性 Epo 産生能を維持できる可能性が考えられる。本研究では Apelinergic system の腎線維化に対する影響と内因性 Epo 産生能に対する影響について解析し、Apelinergic system を標的とした腎線維化および腎性貧血治療の可能性について検討する。</p> <p>【方法および結果】 雄性 C56BL/6 (10-12 週齢) においてマウス片側尿管結紮 (unilateral ureteral obstruction: UUO) を作成し、以下の検討を行った。</p> <p>① UUO 腎における APJ 受容体 mRNA および APJ 受容体蛋白の発現: UUO day 7 において、RT-PCR、ウエスタンブロッティングにより UUO 腎の APJ 受容体 mRNA および蛋白の発現を検討した。その結果、UUO 腎では対側腎と比べ APJ 受容体 mRNA および APJ 受容体蛋白の発現は有意に増加していた。さらに上記の UUO モデルにおいて、UUO 作成時に同時に皮下に埋め込んだミニ浸透圧ポンプを用い生理食塩液に溶解した (Pyr1)-apelin-13 (2mg/kg/day) を持続的に皮下投与し、生理食塩液投与群 (control 群) と比較し以下の検討を行った。</p> <p>② UUO マウスにおける Apelin 投与の血圧に対する影響: UUO 前、UUO day 3、day 7 において、マウスの収縮期血圧は control 群と Apelin 投与群でいずれも有意差を認めなかった。</p> <p>③ Apelin 投与の腎線維化に対する影響: UUO day 7 においてマウスを sacrifice し、UUO 腎を摘出しホルマリン固定後腎パラフィン切片の Masson 染色を行い、Apelin 投与の腎線維化に対する影響を検討した。Masson point count 法による間質 collagen index は、Apelin 投与群でコントロール群と比べ有意に減少していた。さらに UUO 腎凍結組織抽出液を用い、RP-HPLC 法により hydroxyproline 定量を行ったところ、Apelin 投与群ではコントロール群と比べ腎組織中 hydroxyproline 量は有意に減少していた。以上より Apelin 投与により UUO 腎における腎線維化は有意に軽減することが明らかとなった。</p> <p>④ Apelin 投与の myofibroblast 蓄積量に対する影響: さらに UUO day 7 において、UUO 腎パラフィン切片を用い、抗 α-SMA 抗体を用いた免疫染色を行った。α-SMA 染色切片を用いて評価した α-SMA score は、Apelin 投与群では有意に減少しており、Apelin 投与により UUO 腎における myofibroblast 蓄積量は有意に減少することが明らかとなった。</p> <p>⑤ Apelin 投与の間質マクロファージ浸潤に対する影響: 同様に UUO day 7 において、UUO 腎パラフィン切片を用い、抗 F4/80 抗体を用いた免疫染色を行った。F4/80 染色切片を用いて評価した間質マクロファージ浸潤については両群間で有意差を認めなかった。</p> <p>以上の結果より、UUO 腎において Apelin 投与は腎線維化の進行を抑制し、その機序に myofibroblast 蓄積量の減少が関係する可能性が考えられた。さらに Apelin 投与の UUO 腎における内因性 Epo 産生能に対する影響を解析するため、現在 UUO 腎より抽出した total RNA を用い、RT-PCR により腎組織中 Epo mRNA の発現を検討中である。</p>	