

氏 名	田 中 敬
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 6 4 0 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 3 年 3 月 1 0 日
学 位 論 文 題 目	Fenofibrate, a PPAR agonist, has renoprotective effects in mice by enhancing renal lipolysis (PPAR 作動薬であるフェノフィブラートはマウス腎疾患モデルにおいて腎内脂肪酸分解の促進を介して腎保護作用をもたらす)
審 査 委 員	主 査 教 授 岡 田 裕 作 副 査 教 授 岡 部 英 俊 副 査 教 授 安 藤 朗

論文内容要旨

※整理番号	645	(ふりがな) 氏 名	たなか ゆき 田中 敬
学位論文題目	<p>Fenofibrate, a PPARα agonist, has renoprotective effects in mice by enhancing renal lipolysis</p> <p>(PPARα 作動薬であるフェノフィブラートはマウス腎疾患モデルにおいて腎内脂肪酸分解の促進を介して腎保護作用をもたらす)</p>		
<p>【目的】糸球体疾患から末期腎不全に至る患者数は増加の一途をたどっており、糸球体疾患の発症ならびに進展を予防しうる新たな治療戦略が求められている。糸球体疾患は糸球体病変の進行に伴う蛋白尿の増加、その後の尿細管間質病変の進展により末期腎不全へと進行する。腎組織における脂肪蓄積の増加（脂肪毒性）が肥満や糖尿病に伴う糸球体病変の発症、ならびに蛋白尿を呈する糸球体疾患の尿細管間質病変の進展に関与し、その改善が新たな治療標的となりえる可能性が報告されている。Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)αは他の臓器とともに腎臓にも高発現している核内受容体型転写因子であり、その活性化が脂肪酸分解酵素の発現を増強させ脂肪酸分解を促進する。そこで、PPARαの活性化による腎内脂肪毒性の是正が糸球体疾患に対する新たな治療戦略になりうるのではないかと考え、糸球体疾患の発症、進展に対する PPARα作動薬であるフェノフィブラートの有効性を検討することとした。</p> <p>【方法】1) 糸球体病変の発症に対するフェノフィブラートの有効性の検討。7 週齢の雄性 C57BL/6 マウスを、全エネルギー中脂肪比率 10%の通常食群、60%の高脂肪食群、および各々に 0.05%のフェノフィブラートを混餌した群の 4 群に分け、12 週間の食餌負荷を行った。負荷終了後、全身の糖脂質代謝状態、尿中アルブミン排泄量ならびに腎組織所見の検討を行った。腎臓における線維化の指標として fibronectin (FN)、plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) の発現量を定量的 RT-PCR 法および免疫組織染色にて、酸化ストレスに対する検討を 4-hydroxynonenal (4-HNE) の免疫組織染色ならびに抗酸化酵素の mRNA 発現量にて検討した。腎内中性脂肪蓄積量を Oil red O 染色にて、acyl-CoA oxidase (ACO)、carnitine palmitoyltransferase-1 (CPT-1) など脂肪酸分解酵素および acetyl-CoA carboxylase (ACC) など脂肪酸合成酵素の発現量を定量的 RT-PCR 法ならびに Western Blotting 法にて評価した。</p> <p>2) 尿細管間質病変の進展に対するフェノフィブラートの有効性を検討。7 週齢より雄性 C57BL/6 マウスの食餌を対照食あるいは 0.05%フェノフィブラート含有食に切り替え、食餌変更 3 日後より 0.3g/30g の脂肪酸結合ウシ血清アルブミンあるいは同量の PBS の腹腔内投与を</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

11日間行った。負荷終了後、尿中蛋白排泄量ならびに腎組織所見の検討を行った。腎臓における線維化、炎症の指標として、FN、PAI-1ならびにF4/80、monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)の発現量を定量的RT-PCR法および免疫組織染色にて、酸化ストレスに対する検討を4-HNEの免疫組織染色にて行った。脂肪酸分解酵素および合成酵素の発現量は、定量的RT-PCR法ならびにWestern Blotting法にて評価した。

3)腎培養細胞を用いた飽和脂肪酸(パルミチン酸)刺激に対するフェノフィブラートの有効性の検討。フェノフィブラートを前孵置した培養マウスメザンギウム細胞およびマウス近位尿細管細胞に、パルミチン酸刺激を行い、PAI-1、MCP-1ならびにACO、CPT-1などの脂肪酸分解酵素のmRNA発現量、H₂DCFDA蛍光プローブを用いた細胞内活性酸素種測定を行った。

【結果】1)高脂肪食負荷肥満マウスに対するフェノフィブラートの有効性の検討。フェノフィブラートは高脂肪食群で認めた体重増加や、空腹時血糖値、血清コレステロール値の上昇といった糖脂質代謝異常を有意に抑制した。また、フェノフィブラートはACO、CPT-1などの脂肪酸分解酵素の発現量、抗酸化酵素の発現量を増加させ、高脂肪食群で認められた腎臓での脂肪沈着の増加や4-HNE沈着増加を抑制し、尿中アルブミン排泄量の増加や糸球体腫大、メザンギウム基質、線維化の増加などの糸球体病変を有意に抑制した。

2)脂肪酸結合アルブミン誘発腎間質病変モデルマウスに対するフェノフィブラートの有効性の検討。フェノフィブラートは腎臓における脂肪酸分解酵素の発現量を増加させ、脂肪酸結合アルブミン投与群で認めた間質の線維化、炎症細胞浸潤の増加、4-HNE沈着の増加などの尿細管間質病変を有意に抑制した。

3)腎培養細胞を用いたパルミチン酸刺激に対するフェノフィブラートの有効性の検討。フェノフィブラートの前孵置は、両細胞において脂肪酸分解酵素の発現量を濃度依存性に増加させ、培養マウスメザンギウム細胞におけるパルミチン酸刺激によるPAI-1の上昇、酸化ストレスの増加を濃度依存性に抑制した。また、培養近位尿細管細胞においてパルミチン酸刺激によるPAI-1、MCP-1の上昇、酸化ストレスの増加を濃度依存性に抑制した。

【考察】臓器局所における脂肪酸分解酵素発現の抑制を伴う脂質代謝の不均衡が脂肪毒性をもたらす、酸化ストレスの増加を介して臓器の組織障害や機能障害につながる事が報告されている。本研究では、糸球体病変の発症ならびに尿細管間質病変の進展に腎内脂肪毒性が関与していること、PPAR α 作動薬が脂肪酸分解酵素の発現増加による腎内脂肪毒性の是正を介し、糸球体病変の発症、尿細管間質病変の進展抑制に寄与することを確認した。また、腎培養細胞を用いた検討により、PPAR α 作動薬が腎臓に対する直接的な保護作用を示すことを確認した。PPAR α の活性化が糸球体疾患の発症および進展に対する新たな治療戦略となる可能性が示唆された。

【結論】PPAR α 作動薬であるフェノフィブラートは脂肪毒性に関連した糸球体病変ならびに尿細管間質病変モデルおよび腎培養細胞において、脂肪酸分解を促進し腎内脂肪毒性の是正を介して、酸化ストレスを軽減し、線維化、炎症の増大といった糸球体病変の発症ならびに尿細管間質病変の進展を抑制した。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	645	氏名	田中 敬
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体11ポイント、6,000字以内で作成のこと。)</p> <p>糸球体疾患から末期腎不全に至る患者数は増加の一途を辿っており、糸球体疾患に対する新たな治療戦略が求められている。本研究は糸球体疾患の発症および進展に關与する因子として腎内脂肪毒性に着目し、PPARα 作動薬であるフェノフィブラートの腎内脂肪毒性の是正を介した腎保護作用について検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) フェノフィブラートは高脂肪食負荷肥満マウスにおいて、腎局所での脂肪酸分解を促進し、糸球体における酸化ストレスの増加、線維化を抑制し、糸球体病変の発症を抑制した。 2) フェノフィブラートは脂肪酸結合アルブミン誘発尿細管間質病変モデルマウスにおいて、腎局所での脂肪酸分解を促進し、尿細管における酸化ストレスの増加、線維化、炎症を抑制し、尿細管間質病変の進展を抑制した。 3) 培養マウスメザンギウム細胞および近位尿細管細胞において、フェノフィブラートはパルミチン酸 (飽和脂肪酸) 刺激に対して、脂肪酸分解を促進し、酸化ストレスの増加、線維化マーカーである PAI-1 および炎症性サイトカインである MCP-1 の発現増加を抑制した。 <p>本論文は PPARα 作動薬による腎内脂肪毒性の是正が脂肪毒性に関連した糸球体病変の発症ならびに尿細管間質病変の進展に対する新たな治療戦略となりうるという新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。(総字数 586 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成23年 1月28日)</p>			