

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	川岡 孝一郎
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
Valproic acid attenuates renal fibrosis through the induction of autophagy. (バルプロ酸はオートファジーを誘導させることで腎線維化を抑制する)			
論文審査担当者			
主査	教授	浅野 知一郎	印
審査委員	教授	服部 登	
審査委員	教授	酒井 規雄	
〔論文審査の結果の要旨〕			
(背景・目的)			
<p>腎線維化は、慢性腎臓病（CKD）の原疾患に関わらず、末期腎不全に至る共通経路であるため、治療ターゲットとして重要である。腎線維化の進展に、Transforming growth factor-beta 1(TGF-<math>\beta</math>1)が強く関与しているが、その阻害による治療薬の確立は困難であることが知られている。</p> <p>Autophagy は、細胞内の蛋白を分解し再利用する機構のことで、異常な蛋白の蓄積を阻害する働きを有している。腎線維化の主要な病態は、細胞外マトリックス蛋白の過剰産生であるため、Autophagy によるこれらの蛋白の除去は、細胞障害の進展抑制に有益であると考えられる。実際これまでに、Autophagy の臓器保護効果について多くの報告があり、腎線維化に対しても同様の効果が期待される。</p> <p>Valproic acid (VPA) は、てんかんなどの治療薬として、すでに临床上広く使用されている薬剤であるが、近年 Autophagy を誘導する作用を有していることが明らかとなった。今回われわれは、VPA で誘導される Autophagy の腎線維化に対する効果について検討した。</p>			
(方法)			
<p>① マウスの腎線維化モデルとして、片側尿管結紮（UUO; Unilateral Ureteral Obstruction)マウスを作製し、Autophagy inducer として VPA を 100 mg/kg/day、Autophagy inhibitor として 3-methyladenine (3-MA)を 50 mg/kg/day を、単独あるいは併用で、連日投与した。Day 5 で屠殺し、1) Sham 群、2) Vehicle 群、3) VPA 投与群、4) 3-MA 投与群、5) VPA+3-MA 併用群における腎線維化と Autophagy に対する効果を比較検討した。</p> <p>② TGF-<math>\beta</math>1 で刺激したラットの腎間質線維芽細胞（NRK-49F）と腎近位尿細管上皮細胞（NRK-52E）において、1) Control 群、2) VPA 投与群(10mM)、3) VPA(10mM)+3-MA(5mM) 群、4) VPA(10mM)+3-MA(10mM) 群における線維化と Autophagy に対する</p>			

効果を検討した。

(結果)

- ① UUOマウスにおいて、Masson' s trichrome staining、Immunohistochemistry staining ( $\alpha$ -SMA、Collagen-1)を施行した結果、VPA投与群で線維化の抑制、3-MA投与群で亢進を認め、両者の併用でそれぞれの薬剤の効果が減弱した。AutophagyのマーカであるLC3-II/I (LC3; microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3)の変化率は、VPA投与群でAutophagyが亢進し、3-MAではその抑制、両者の併用で、それぞれの薬剤単独でのAutophagyに対する効果が減弱していることを示した。
- ② TGF- $\beta$ 1で刺激したNRK-49FとNRK-52Eにおいて、VPA投与はAutophagyのマーカであるLC3-II/IやBeclin1の亢進を認めるとともに、 $\alpha$ -SMAの発現を抑制した。また、VPAの効果は、3-MAを併用することによって、Autophagyの抑制とともに、 $\alpha$ -SMAの発現を亢進させた。

以上、①②の結果より VAP は Autophagy を誘導し、腎線維化を抑制することが示された。

(考察)

VPA は、抗てんかん薬としてすでに広く臨床の場で使用されており、主として肝代謝であるため CKD 患者にも血中濃度を測定することで安全に使用することが可能な薬剤である。さらに近年、VPA がヒストン脱アセチル化酵素を阻害する作用を有していることが報告されており、VPA の抗線維化作用も、ヒストンのアセチル化を介したものであることも考えられる。一般的に、ヒストンのアセチル化は、転写活性を亢進する作用を有しているが、抗線維化作用がヒストンのアセチル化によるとは考えにくい。

一方で、ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬は、ヒストン修飾とは独立して、Autophagy を誘導する作用を有していることが明らかとなっている。実際にわれわれの検討でも、VPA で誘導される Autophagy を 3-MA で阻害することによって、VPA の抗線維化作用が消失しており、VPA は Autophagy を誘導することによって、腎線維化を抑制したと考えられる。

Autophagy の腎保護作用には多くの報告があるが、TGF- $\beta$ 1 で誘導される筋線維芽細胞への形質転換がオートファジーを誘導することで阻害されており、細胞内で過剰に産生された蛋白の除去が抗線維化の機序であると考えられた。しかし、Autophagy は、腫瘍や免疫、老化、感染症、細胞死、代謝などの病態とも深く関連していることが報告されているが、その効果は必ずしも臓器保護的な作用のみではないため、その臨床応用には十分な注意が必要である。

(結語)

本研究で、VPA 投与は、Autophagy を誘導し、腎線維化の抑制することが明らかになった。

以上より審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。