

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	曾爾 浩太郎
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Deubiquitinase inhibitor PR-619 reduces Smad4 expression and suppresses renal fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction (脱ユビキチン化酵素阻害薬 PR-619 は Smad4 発現を低下させ、片側尿管結紮マウスにおける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	吉 栖 正 生	
審査委員	准教授	亭 島 淳	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>慢性腎臓病は、末期腎不全に至るリスクが高まるのみでなく、心血管疾患も高頻度に合併することから、全身性疾患として全世界的に関心を集めている。慢性腎臓病の原因は様々であるが、すべての腎疾患は、腎尿細管間質の線維化を経て末期腎不全に至る。したがって、腎線維化は慢性腎臓病の治療ターゲットとして注目されているが、未だ有効な治療法は確立されていない。</p> <p>腎線維化の過程においては、Transforming growth factor(TGF)-β1-Smad シグナルが重要な役割を果たす。TGF-β1 が II 型 TGF-β 受容体に結合すると、I 型 TGF-β 受容体が活性化される。続いて細胞内の Smad2/3 が活性化され、Smad4 と複合体を形成し、核内へ移行して、標的遺伝子の転写調節に関与する。よって、腎線維化を抑制するためには、これらの TGF-β1 シグナル関連蛋白質の発現を抑制することが治療戦略となり得る。</p> <p>ユビキチンは、蛋白質に可逆的に結合し、プロテアソームによる蛋白質分解の目印となる翻訳後修飾分子である。したがって、ユビキチンリガーゼによる蛋白質のユビキチン化は、蛋白質の発現を低下させる機構である。脱ユビキチン化酵素 (deubiquitinating enzyme : DUB) は、ユビキチンリガーゼとは反対に、蛋白質の発現を維持する作用を有している。がん領域の研究において、DUB が、TGF-β1 シグナル関連蛋白質の発現を保持し、TGF-β1-Smad シグナルを増強させることが示されており、DUB が腎線維化の過程にも重要な役割を果たすことが予想される。DUB の抑制は、ユビキチン化を保持し、蛋白質の分解を促進することから、DUB を抑制することで、TGF-β1-Smad シグナル関連蛋白質の発現を低下させ、腎線維化を改善させることが期待できる。</p> <p>本研究では、確立された腎線維化モデルである片側尿管結紮(UUO)マウスおよび</p>			

TGF- β 1 刺激を行った腎間質線維芽細胞 (NRK-49F) において、pan-DUB 阻害薬である PR-619 が、腎線維化とその主要な経路である TGF- β 1-Smad シグナルに及ぼす影響を検討した。

8 週齢の C57BL/6J マウス (オス) に UUO を施し、腎線維化モデルマウスを作製した。UUO マウスに対し、PR-619 を投与した群と Vehicle を投与した群において、線維化マーカーおよび TGF- β 1-Smad シグナル関与蛋白質の発現を比較検討した。最初に、UUO マウスに PR-619 を投与することで、腎間質の細胞浸潤を減少させ、Masson's Trichrome 染色で青く染まる腎間質の線維化面積を縮小させた。UUO マウスにおいては、間葉系マーカーである α -SMA と FSP-1 の発現や細胞外マトリックス (ECM) 蛋白である collagen1, collagen3, fibronectin の発現が亢進するが、PR-619 の投与により、これらの発現は抑制された。UUO マウスにおける腎障害に対する PR-619 投与の効果をさらに検討したところ、MMP2 と MMP9 の発現や、TUNEL 染色で標識されたアポトーシス、CD68 陽性のマクロファージ浸潤は、UUO マウスにおいて亢進したが、PR-619 の投与で軽減した。つぎに、UUO マウスにおける TGF- β 1-Smad シグナルを解析した結果、UUO マウスでは、sham と比較して、Smad2、Smad3、Smad4、I 型 TGF- β 受容体の発現が亢進し、II 型 TGF- β 受容体の発現は低下した。PR-619 の投与は、Vehicle 投与群と比較して、Smad4 の発現のみ有意に抑制した。最後に、腎間質線維芽細胞である NRK-49F 細胞において、PR-619 投与の効果を検証した。TGF- β 1 刺激により誘導される α -SMA は、PR-619 投与により抑制された。Smad4 については、TGF- β 1 刺激では control と比較して亢進しなかったが、PR-619 投与により抑制された。

以上の結果から本論文は、DUB 阻害薬である PR-619 が、腎線維化モデルマウスおよび TGF- β 1 刺激を行った腎間質線維芽細胞において、腎線維化を抑制することを明らかにした。また、PR-619 の投与は Smad4 発現も低下させた。Smad4 発現に関わる特異的な DUB を同定できていないことが今後検討すべき課題ではあるが、DUB の阻害は、新たな慢性腎臓病の治療の選択肢となる可能性が示された。

よって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のあるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	曾爾 浩太郎
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Deubiquitinase inhibitor PR-619 reduces Smad4 expression and suppresses renal fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction (脱ユビキチン化酵素阻害薬 PR-619 は Smad4 発現を低下させ、片側尿管結紮マウスにおける腎線維化を抑制する)			
最終試験担当者			
主査	教授	浅野 知一郎	印
審査委員	教授	吉栖 正生	
審査委員	准教授	亭島 淳	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判定合格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成30年11月1日の第76回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年10月31日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 UUOの線維化モデルとしての妥当性、実臨床におけるCKDとの対比および治療のタイミング 2 薬剤や慢性疾患によるCKDモデルの有無 3 Smad4に関わる特異的な脱ユビキチン化酵素の有無 4 脱ユビキチン化酵素阻害薬による全身的な作用と創薬の可能性 <p>これら試問に対して適切に解答し、本委員会が学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			