

氏名 伊藤 麻里江

本研究は、動物実験において報告されている腎虚血障害に対する prolyl hydroxylase domain-containing enzymes (PHD) 阻害薬の腎保護効果のメカニズムを明らかにするため、虚血障害と類似する oxygen-glucose deprivation (OGD)モデルを用いて、ヒト近位尿細管細胞における PHD 阻害薬の効果を検証したものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒト近位尿細管細胞に対して PHD 阻害薬を前投与することにより、OGD 後の生存細胞数の増加、reactive oxygen species (ROS)の減少が認められた。
2. PHD の isoform である PHD1-3 の siRNA を用いた検討をおこない、PHD 阻害薬の保護効果が PHD2 阻害によることを明らかにした。さらに HIF1,2 の siRNA を用いた検討をおこない、この薬剤の保護効果が HIF1 を介していることを示した。
3. OGD 刺激をした尿細管細胞に対して microarray 解析を行い、PHD 阻害薬の前投与により解糖系に関わる酵素の遺伝子発現が上昇していることを示した。
4. Autophagy の重要タンパクである Atg5 を CRISPER/Cas9 により knock out した尿細管細胞を作製した。これを用いた検討を行ったところ、HIF1 により活性化されかつ虚血障害において保護的に働くことが既報で示されていた autophagy は、本モデルでは PHD 阻害薬の保護効果に関与しないことが明らかになった。
5. ミトコンドリア呼吸を阻害する rotenone, antimycin A 投与下において flux analyzer を用いて解糖系速度を計測し、PHD 阻害薬投与により解糖系が活性化されることを示した。
6. 解糖系に関わる酵素に加えて基質についても検討したところ、PHD 阻害薬投与により HIF1 を介して glycogen 合成酵素遺伝子の発現が上昇するとともに細胞内 glycogen 貯蔵量の増加が認められた。また、ROS 減少の機序として悪性腫瘍細胞で報告されていた pentose phosphate pathway (PPP)を介した glycogen からの NADPH, Glutathione-SH (GSH)の産生が本研究において尿細管細胞で認められた。また、これが PHD 阻害薬の保護効果のメカニズムであることが、グリコーゲン合成の律速酵素である glycogen synthase 1 (GYS1)の siRNA、解糖系阻害薬の 2-Deoxy-D-glucose、NADPH と GSH の酸化還元反応を媒介する glutathione reductase (GR)を阻害する 2-AAPA をそれぞれ用いた阻害実験の結果から示唆された。

以上、本論文は、虚血障害に対する PHD 阻害薬の腎保護効果のメカニズムを尿細管

細胞を用いて明らかにしたものである。PHD 阻害薬の臨床応用における多面的効果の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。