The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Direct transfer of hepatocyte growth factor gene into kidney suppresses cyclosporine A nephrotoxicity
Author(s)	矢澤, 浩治
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45330
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【103】

氏　　名	矢　澤　浩　治（やざわ　こうじ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　18531　号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学　位　論　文　名	Direct transfer of hepatocyte growth factor gene into kidney suppresses cyclosporine A nephrotoxicity **（腎への直接的HGF遺伝子導入によるサイクロスポリンA腎毒性の抑制効果）**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　奥山　明彦 （副査） 教　授　堀　　正二　　教　授　金田　安史

論　文　内　容　の　要　旨

〔目的〕

サイクロスポリン（CsA）の導入は、急性拒絶反応による移植腎廃絶を減少させ移植後早期の生着率を向上させた。一方で、その腎毒性は長期生着率を妨げる要因となっている。CsA腎症は、尿細管細胞の空胞変性、尿細管間質のストライプ状の線維化、輸入細動脈の硝子化などを特徴とする。肝細胞の増殖を促進する物質として分離された肝細胞増殖因子（Hepatocyte Growth Factor；HGF）は、腎保護作用を有することが知られており、様々な動物実験モデルにてHGFの投与により慢性腎疾患の発症や進展を予防できることが報告されている。HGFは、容易に肝臓で代謝されてしまい、その活性が消失してしまう。そこで、我々はエレクトロポレーションという方法を用いて腎臓に直接HGF遺伝子導入を行い、ラットのCsA腎症モデルに対する腎保護作用について検討した。

〔方法ならびに成績〕

6週齢のSDラットに低塩食下にCsA（30 mg/kg）を毎日経口投与行い、CsA腎症モデルを作成した。Day0にラットを開腹し、左腎動脈内に24Gのカテーテルを留置し、HGFプラスミドDNA（200 μg in 1 ml PBS）を注入した後、腎静脈をクランプした。HGFプラスミドで環流された腎臓を楕円形の電極で挟み75V、6回100 msecの電気パルスを与え遺伝子導入を行った。これをHGF治療群とした。CsAを投与してsham operationを行った群をコントロール群とした。Day7、14、21で血漿サンプル採取、腎臓のハーベストを行った。

1）血漿中HGF濃度

それぞれのポイントでの血漿中のHGF濃度をELISA法にて測定した。コントロール群では、48.7±18.8 ng/ml（Day7）、61.1±11.7 ng/ml（Day14）、56.4±24.6 ng/ml（Day21）に対し、HGF群では106.5±50.5 ng/ml（Day7：$p<0.05$ vs コントロール群）、67.9±48.5 ng/ml（Day14）、71.3±25.6 ng/ml（Day21）であった。

2）病理組織学的検討

PAS染色にて、コントロール群ではCsA腎症に特有の尿細管萎縮、ストライプ状線維化、炎症細胞浸潤を示しているが、HGF群ではこれらの尿細管間質の障害が抑制されていた。また、Masson trichrome染色標本をcolor image analyzerに取り込み青染された領域の半定量化を行い、間質の線維化の評価を行った。コントロール群（5.3±1.2 and

7.2±1.5% at 2 and 3 weeks）に対し、HGF群（3.4±1.2 and 5.2±1.4% at 2 and 3 weeks、p<0.01 vs コントロール群）では有意に線維化が抑制されていた。

3）免疫組織染色

myofibroblast への形質転換は細胞外マトリックスの産生を導き間質の線維化を促す。smooth muscle α-actin（SMαA）にて myofibroblast を免疫染色することで線維化の評価を行った。コントロール群（5.5±1.7% at 3 weeks）と比較して、HGF群（3.9±1.6% at 3 weeks : p<0.01 vs コントロール群）では有意にSMαAの発現が抑制されていた。また、ED-1 にてマクロファージの浸潤の程度を評価した。コントロール群（52.9±17.3/HPF at 3 weeks）に対し、HGF群（39.2±13.2/HPF : p<0.01 vs コントロール群）では有意にマクロファージの浸潤が抑制されていた。

4）Nothern blot analysis

Nothern blot analysis にて TGF-β、type Ⅰ collagen の mRNA レベルでの発現を各群で比較した。HGF群ではコントロール群に比べ、有意に TGF-β、type Ⅰ collagen の mRNA の発現が抑制されていた。

〔総括〕

CsA による腎の間質の線維化には TGF-β が重要な役割を占めていると考えられている。HGF 遺伝子導入により TGF-β の発現が抑制され、CsA による腎の間質線維化を抑制することが可能であった。エレクトロポレーションによる腎臓への直接的 HGF 遺伝子導入は CsA 腎症に対する有効な手段と思われた。

論文審査の結果の要旨

シクロスポリン A（CsA）の登場は、急性拒絶反応による移植腎の廃絶を減少させたが、一方、その腎毒性は、さらなる移植腎生着率の向上を妨げる要因になっている。本研究は、肝細胞増殖因子（Hepatocyte Growth Factor, HGF）の腎保護作用に着目し、その遺伝子を腎臓に導入することによる CsA の腎毒性に対する効果を検討したものである。HGF の遺伝子導入により、CsA による尿細管障害、間質の線維化、マクロファージの間質への浸潤が有意に抑制され、間質細胞の形質転換も抑制された。また、腎皮質の TGF-β、Type Ⅰ collagen の mRNA の発現の抑制も示された。

この結果は、HGF 遺伝子導入が CsA の腎毒性を抑制する有効な手段になりうると思われ、移植腎の長期生着を目指した移植医療にとっては貴重なものであり、学位の授与に値すると考えられる。