

Title	Inhibition of tubular cell proliferation by neutralizing endogenous HGF leads to renal hypoxia and bone marrow-derived cell engraftment in acute renal failure
Author(s)	大西, 浩之
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/48971">https://hdl.handle.net/11094/48971</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	おおにしひろゆき 大西浩之
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 21866 号
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学位論文名	Inhibition of tubular cell proliferation by neutralizing endogenous HGF leads to renal hypoxia and bone marrow-derived cell engraftment in acute renal failure (急性腎不全での HGF 機能阻害による尿細管上皮増殖抑制と骨髄幹細胞動員亢進)
論文審査委員	(主査) 教授 中村 敏一  (副査) 教授 仲野 徹 教授 奥山 明彦

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

腎臓や肝臓といった実質臓器における組織修復は残存上皮の増殖に依存するが、近年骨髄幹細胞の動員も一部組織再生に荷担することが知られている。しかしながら、実質臓器において上皮増殖と骨髄幹細胞動員のバランスがどのような分子機構によって規定されているかは不明であった。腎虚血により急性腎不全を惹起したマウスでは尿細管上皮増殖と骨髄幹細胞動員の双方が腎再生に寄与することが知られている。そこで今回、このモデルを用いて Hepatocyte growth factor (HGF) の上皮再生および骨髄幹細胞動員に対する生体機能を解析した。

#### 【成績】

1) GFP トランスジェニックマウスからの骨髄移植によって造血細胞を置換し、骨髄由来細胞を識別できるマウスを作成した。このマウスに 40 分の腎虚血を実施したところ、術後 48 時間までに皮髄境界部を中心に尿細管に傷害が認められ、BUN 値は約 5 倍まで上昇するなど重篤な急性腎不全を発症した。このモデルでは術後 2-4 日には尿細管上皮細胞の活発な増殖が認められ、術後 4 日目には一部組織傷害が残るものの腎機能はほぼ正常化された。以上の修復過程において、血中 HGF レベルは術後 2 日目には正常値の約 5 倍まで上昇し、術後 6 日目まで有意な高値を維持した。さらに再生の活発な皮髄境界部を中心に尿細管上皮では HGF 受容体/Met のチロシンキナーゼがリン酸化している像が観察された。一方、傷害が残存する領域では 6 日以降 GFP 陽性(骨髄由来)細胞の間質浸潤が認められ、GFP 陽性細胞が尿細管に取り込まれる傾向が高まった。

2) 以上から、傷害により誘導される内因性 HGF が(骨髄幹細胞動員よりも)尿細管上皮増殖に対して重要な機能を果たすことが予想された。そこで HGF の機能をブロックする目的で腎虚血後 36 時間目から HGF 中和抗体をマウスの腹腔内に投与した。その結果、尿細管上皮細胞での Met チロシンリン酸化が抑制され、これに一致してプロモデオキシウリジンの取り込みで見た尿細管上皮細胞の増殖が阻害されることが明らかとなった。さらに HGF 中和抗体

群では BUN 値が術後 4 日目でも高値を維持しており、腎機能不全からの回復が遅延していることが判明した。一方、HGF 中和抗体群では尿細管再生不良に一致して GFP 陽性細胞（＝骨髄由来細胞）が腎間質および尿細管実質領域の両方において明らかに増加していた。

3) HGF 中和による骨髄幹細胞の動員促進機序を明らかにするため、骨髄細胞のホーミングに重要とされる stromal cell-derived factor (SDF-1) の変化に着目した。HGF 中和状態では pimonidazole の沈着で見た腎尿細管の虚血が明らかに亢進しており、SDF-1 のキー転写因子である HIF-1 の発現が上昇していた。これに一致して HGF 中和群の腎臓では SDF-1 の mRNA および蛋白の発現がともに有意に上昇していた。実際に腎虚血マウスに CXCR4/SDF-1 receptor の中和抗体を投与すると、骨髄幹細胞の間質浸潤が阻害され、GFP 陽性尿細管も有意に減少した。逆に腎虚血マウスにリコンビナント HGF を投与すると、上皮増殖亢進→虚血改善→SDF-1 低下に伴い、GFP 陽性尿細管は有意に減少した。

4) 最後に虚血傷害後の腎組織における HGF と SDF-1 の発現分布を解析した。その結果、HGF は虚血がなく尿細管上皮増殖が活発な領域の間質に発現していた。一方、SDF-1 は虚血が強く GFP 陽性細胞を取り組んだ尿細管上皮細胞に発現していた。

#### 【総括】

急性腎不全モデルにおいて HGF は上皮増殖を介した尿細管再生機構を駆動する一方、骨髄幹細胞動員を介した尿細管修復を抑制することが判明した。今回の解析から、腎尿細管の上皮増殖および骨髄幹細胞動員を介した再生様式はそれぞれ HGF および SDF-1 に依存しているものと予想される。すなわち、好氣的環境下では腎間質から速やかにパラクリン供給される HGF によって上皮再生が駆動される一方、虚血環境下では上皮自身によってオートクリン供給される SDF-1 によって骨髄幹細胞がリクルートされる可能性が考えられた。これまでの多くの研究から、腎不全を始めとする多くの実質臓器疾患では虚血の継続により内因性 HGF 産生が阻害されることが明らかとなっている。したがって HGF 補充療法は腎不全をはじめとする様々な虚血性疾患に対して発症予防、病態改善を実現する合理的な治療戦略になることが期待される。

### 論文審査の結果の要旨

腎などの実質臓器の修復は主に上皮増殖に依存するが、骨髄幹細胞による再生も加担する。肝細胞増殖因子 (HGF) は尿細管上皮の増殖を促すが、骨髄幹細胞による腎修復機構に対する機能は不明であった。今回、骨髄幹細胞が修復に寄与する腎虚血マウスを用い、HGF の機能を解析した。

GFP-TG マウスからの骨髄移植により骨髄細胞を置換したマウスに腎虚血を与えたところ、回復期の 6 日目には骨髄由来 (GFP 陽性) 尿細管が増加した。一方、術後 2 日目に血中 HGF 濃度は上昇し、尿細管上皮の増殖も認められた。そこで HGF 中和抗体を投与したところ、上皮の増殖抑制、虚血増悪に一致して SDF-1 値が上昇し、GFP 陽性尿細管が増加した。一方、リコンビナント HGF を投与すると、上皮増殖→虚血改善→SDF-1 低下とともに骨髄由来尿細管は減少した。

今回の解析から、HGF は上皮再生を促し、虚血を改善することで骨髄幹細胞の動員を介さずに、腎機能を改善させることが判明した。HGF による上皮増殖を介した再生戦略は腎虚血をはじめとする様々な疾患の治療に有効であると期待され、以上の功績は学位に値すると考える。