OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Excess 25-hydroxyvitamin D3 exacerbates tubulointerstitial injury by modulating the phenotype of macrophages in mice
Author(s)	楠, 康生
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/53900
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	楠　康生
論文題名 Title	Excess 25-hydroxyvitamin D_3 exacerbates tubulointerstitial injury by modulating the phenotype of macrophages in mice (過剰の25-hydroxyvitamin D_3はマクロファージの表現型を変化させることで腎尿細管間質障害を悪化させる)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

皮膚で合成あるいは食物から摂取された天然型ビタミンDは肝臓で25位が水酸化され25-hydroxyvitamin D(25D)となり、次に主として腎臓に存在する25D活性化酵素(CYP27B1)により1位が水酸化されて1α,25-dihydroxyvitamin D(1,25D)となる。1,25Dが活性体としてビタミンD受容体(VDR)へ結合し種々の作用を発揮するという古典的作用メカニズムの確立により、前駆体25Dは生物学的作用を有さないという考えが定着した。その一方で近年、多くの観察研究において活性体1,25Dの血中濃度ではなく、前駆体25Dの血中濃度が生命予後などと相関することが明らかとなってきた。そこで今回我々は、25D自体にも何等かの生理的・薬理的作用があるのではないかと考え、25Dの直接作用について明らかにすべく以下の検討を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

25Dの直接作用を検討するにあたり、1,25Dの影響を除外する目的で、25Dが1,25Dへと変換されない全身性CYP27B1欠損マウスを用いた。また、25Dを取り込む主な細胞は腎近位尿細管細胞とマクロファージであることから、両者が病態に深く関与する腎尿細管間質障害を研究対象とした。

CYP27B1欠損マウスをvehicle投与群、低用量25D_3投与群、高用量25D_3投与群の3群に分け、腎尿細管間質障害のモデルである片側尿管結紮(UUO)を施して25D_3が腎尿細管間質障害へ与える影響について解析した。血清25D_3濃度の測定結果からは、vehicle投与群は25D_3欠乏状態(7.87±0.23 ng/mL)、低用量25D_3投与群は25D_3充足状態(38.41±5.65 ng/mL)、高用量25D_3投与群は25D_3過剰状態(333.28±46.91 ng/mL)と判断された。Vehicle投与群と比較して低用量25D_3投与群では腎障害の程度に差を認めなかったが、高用量25D_3投与群ではUUO腎の活性酸素種マーカーが増加し、尿細管障害および間質線維化が悪化した。高用量25D_3投与群ではvehicle投与群と比較して血清カルシウム(Ca)、リン(P)値の上昇を認めたため、CYP27B1欠損マウスに対して少量の1,25D_3を投与し血清Ca、P値を高用量25D_3投与群と同程度に上昇させて腎障害の程度を評価したが、少量の1,25D_3では尿細管間質障害の悪化を認めなかった。このため、高用量25D_3による腎尿細管間質障害悪化作用は血清Ca、P値の上昇に依存しないことが明らかになった。また、CYP27B1欠損マウスでは25D_3から1,25D_3へは変換されないが、もう一つの代謝物である24,25-dihydroxyvitamin D_3 (24,25D_3)へは変換されうる。この24,25D_3が病態悪化に関与した可能性を考慮して、25D_3投与実験と同様に24,25D_3を投与して検討したが、24,25D_3投与では尿細管間質障害の悪化を認めなかった。以上から、高用量25D_3自体が腎尿細管間質障害悪化作用を有していることが明らかとなった。

次に、25D_3の作用メカニズムについて検討を行った。まず、CYP27B1/VDR二重欠損マウスに高用量25D_3を投与しても尿細管間質障害が悪化しなかったことから、25D_3はVDR依存性に作用を発揮していることが示唆された。次に、上記の高用量25D_3投与群とvehicle投与群検体についてさらなる解析をしたところ、二群間でマクロファージ浸潤度には差を認めないが、高用量25D_3投与群のUUO腎ではTNF-αやTGF-βといったマクロファージに関連するサイトカインの発現増加を認めた。CYP27B1欠損マウスから腎近位尿細管細胞とマクロファージを単離し*in vitro*の検討を行ったところ、CYP27B1欠損マウスから単離したマクロファージでは25D_3負荷によりTNF-αやTGF-βの発現が上昇したが、単離尿細管細胞ではこれらの変化を認めなかった。このことから25D_3はマクロファージの表現型を変化させていることが示唆されたため、最後にマクロファージ欠乏CYP27B1欠損マウスを作成し高用量25D_3を投与したところ、尿細管間質障害が悪化しないことを見出した。以上より、過剰量の25D_3はVDRを介してマクロファージに作用し、TNF-αや活性酸素の産生増加を促して尿細管障害を悪化させると共に、TGF-βの産生増加を促して間質線維化を悪化させることが示唆された。

〔総　括(Conclusion)〕

25D_3は直接作用を有することが明らかとなった。過剰の25D_3はVDR依存性にマクロファージの表現型を変化させ、腎尿細管間質障害を悪化させる。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　楠　康生

論文審査担当者	（職）	氏　名
主　査	大阪大学教授	桑木 実史
副　査	大阪大学教授	木薗 恵一
副　査	大阪大学教授	野々村 祝夫

論文審査の結果の要旨

本論文は活性型ビタミンD(1,25D)の前駆体である25-hydroxyvitamin D (25D)の直接作用について検討したものである。25Dは1,25Dと比して生理活性は低いとされてきたが、近年臨床研究では1,25Dではなく血中25Dが様々な予後と相関することが示されつつあり、25D自体に生理作用がある可能性を否定できない。そこで著者らは、25Dが1,25Dへと変換されない25D活性化酵素(CYP27B1)欠損マウスに25Dを投与することで、25Dの直接作用について検討した。その結果、過剰量の25Dはマクロファージの表現型を変化させてTNF-αやTGF-βなどのサイトカインや活性酸素の産生増加を促すことで、腎尿細管間質線障害を悪化させる作用を有することが明らかとなった。以上の業績はビタミンD製剤の使い分けなどへの理論的背景となる可能性があり、学位に値すると考えられる。