

| | |
|-------------|---|
| 氏 名 | 大 野 和 寿 |
| 学 位 の 種 類 | 博士（医学） |
| 学 位 記 番 号 | 甲第 720 号 |
| 学位授与年月日 | 令和 6 年 3 月 18 日 |
| 学位授与の要件 | 自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当 |
| 学 位 論 文 名 | 腎臓病における VEGF-A シグナルの役割 |
| 論 文 審 査 委 員 | (委員長) 教授 興水 崇鏡 (委 員) 教授 丹波 嘉一郎 教授 森下 義幸 (委 員) |

論文内容の要旨

1 研究目的

慢性腎臓病（Chronic kidney disease : CKD）は、様々な原因によって引き起こされる持続的な腎臓機能障害の状態であり、心血管イベントや死亡のリスクを増加させるため、その発症と進行の予防は医療者にとって喫緊の課題の 1 つである。急性腎障害（Acute Kidney Injury : AKI）は短期間で急激に腎機能が低下する病態である。AKI では、腎臓の主要な構成細胞である尿細管上皮細胞（Renal tubular epithelial cells : RTEC）が傷害を受け、細胞死が引き起こされる。AKI 後、RTEC が再生すれば腎機能は回復するが、RTEC が再生できなかった場合は CKD に移行する。VEGF-A（Vascular endothelial growth factor- A）は代表的な血管新生因子である。腎臓においては、VEGF-A は主に糸球体上皮細胞と RTEC から分泌され、RTEC からの VEGF-A は尿細管周囲毛細血管（Peritubular capillaries : PTC）を維持する役割を担っている。PTC は RTEC に酸素と栄養を供給して腎臓の恒常性を維持しており、その密度は腎予後と相関している。AKI の病態において、PTC の密度は RTEC と同様に減少している一方、腎組織の修復には PTC が重要である。しかし健常腎での VEGF-A の供給源である RTEC が減少した AKI からの回復過程において、どのように PTC が再構築され RTEC が再生するのかは不明である。本研究では腎臓組織における VEGF-A 産生に注目し、腎臓病における組織リモデリングの分子メカニズムを解析した。

2 研究方法

本研究では CKD に共通する組織所見である腎間質線維化を誘導する病態モデルとして、葉酸腎障害モデルを用いて解析を行った。まずマウスに葉酸を投与し、経時的な腎組織の解析を行った。次に CKD 病態における VEGF-A 産生細胞の同定のため葉酸投与 7 日後の腎臓を用いて Single cell-RNA sequencing 解析を行った。また、葉酸投与後の腎組織に集積したマクロファージ (MΦ) について経時的にフローサイトメーターによる解析を行った。MΦ 特異的に VEGF-A を欠損したマウス (*LysM-Cre Vegfa^{fllox/fllox}*) を作製し、葉酸投与による腎線維化を誘導し組織学的な解析を行った。

3 研究成果

葉酸を投与し 2 日後の腎組織における *Vegfa* および *Megalin* の遺伝子発現はベースラインと比較し低下していた。そのため、障害後の腎組織における VEGF-A 産生細胞の同定のため Single cell-RNA sequencing 解析を行ったところ、腎臓に集積した白血球のうち MΦ が特に VEGF-A を高度に発現していた。また、葉酸投与後の腎組織には 2 種類の MΦ の亜集団が 2 相性に集積しており、これらはどちらも *Vegfa* を発現していた。MΦ 特異的に VEGF-A を欠損したマウスに葉酸を投与したところ、葉酸投与 14 日目の腎組織においてコントロールマウスと比較し、腎組織の線維化が増悪した。

4 考察

腎臓病の病態において、組織の修復に尿細管上皮細胞由来の VEGF-A が貢献しているという報告は過去にあるものの、VEGF-A の供給源として MΦ を示した研究は本報告が初めてである。加齢によって VEGF シグナルが機能不全をきたすものの、生体内の VEGF レベルを保つことで微小血管の保持ならびに寿命の延伸が認められたという報告もあり、ヒト検体での解析も含めて腎臓病における VEGF-A シグナルの役割のさらなる解明が期待される。

5 結論

腎臓病の病態において、健常時に VEGF-A を産生する RTEC に代わって腎組織に集積した MΦ が VEGF-A を供給し腎組織を修復する役割を担っていた。腎臓病における MΦ を介した VEGF-A シグナルは CKD の新たな治療標的として期待される。

論文審査の結果の要旨

本博士論文では、急性腎障害における VEGF-A シグナルの役割について明らかにするために、葉酸誘発性腎障害のマウスモデルを作成し、病態モデル腎のシングルセル解析より VEGF-A の産生源としてマクロファージが果たす役割に注目した。さらに VEGF-A が腎尿細管間質での血管新生と組織リモデリングにおいて重要な役割を果たすとの仮説の下、ミエロイド細胞特異的 VEGF-A 欠損マウスを用いた実験を立案した。この遺伝子改変マウスの腎障害モデルを解析することにより、VEGF-A の細胞特異的欠損が、明らかな腎機能障害を呈する以前の段階で、尿細管間質の線維化と尿細管上皮細胞損傷の増悪につながることを見出した。

急性または慢性腎臓病における間質の線維化と尿細管細胞の障害は、現在の治療法では十分な対処が不可能であるため、損傷の進行を遅らせ、機能の回復を促す方法の開発が求められている。本論文はマクロファージ由来の VEGF-A シグナルが、腎臓の修復プロセスにおいて重要な役割を果たし、腎機能の回復と線維化の抑制に寄与する可能性を明らかにした。本研究により、VEGF-A シグナルの調節を通じた新たな治療戦略が示唆され、腎臓病の臨床的問題点に対する新たな治療法となり得ることが示された。

論文は、新たな腎臓病治療の方向性を示唆する新規で独創性のある内容であり、学位審査を通じて審査委員の質問に対しても適切な修正が加えられたことより、審査委員全員一致で合格に値すると判断した。

最終試験の結果の要旨

本研究では、腎障害過程における VEGF-A について、最新の手法を取り入れながら解析を進めその重要性を明らかにすることに成功した。細胞特異的遺伝子改変マウスにおける腎障害は、野生型と比較して明らかに高度であり、腎組織マクロファージの役割が示唆された。

審査発表では、1) 顕微鏡下で観察した染色像から導かれた結論に対する定量的解析の重要性、2) 経時的変化、3) 慢性腎臓病への応用、4) 実験の計画への注意点、5) 論文記述中の疑問点、などについて審査委員から質問と指摘があった。申請者は、質問には科学的根拠とともに真摯に対応し、必要な点について論文への修正で適切に対応した。

以上の発表、質疑応答、修正した博士論文の総合評価より、発表者が十分に博士号に値し、本研究の今後についても大きく進展が期待できる内容と判断し、審査員は全員一致で合格とした。