

氏 名	天野 博明
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第 1531 号
学位授与の日付	令和 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 1 項第 3 号に該当
学位申請論文タイトル及び掲載誌	Cellular communication network factor 2 (CCN2/CTGF) モジュール 4 は focal adhesion kinase (FAK) 経路の活性化を介して腎間質線維化を促進する (Thesis)
学位審査委員（主査）教授	片桐 岳信
学位審査委員（副査）教授	前嶋 明人、教授 川上 理、教授 森 隆

論文内容の要約（要旨）

【背景】

慢性腎臓病（CKD）は本邦において成人の 8 人に 1 人が罹患していると言われている国民病であり、末期腎不全の高リスク病態である。あらゆる腎疾患は進行すると CKD となり、最終的には腎間質線維化という共通経路を経て末期腎不全へ至る。過去の報告から腎間質線維化の程度は腎予後と強く相関していることが証明されており、このプロセスを抑制することで末期腎不全への進展を予防することができるのではないかと考えた。（197 字）

【目的】

本研究は、腎臓における cellular communication network factor 2 (CCN2/CTGF) の線維化促進作用のメカニズムを検討した。CCN2 は transforming growth factor (TGF) - β 1 の線維化作用を仲介する matricellular protein であり、特徴的な 4 つのモジュール構造から成る。特異的な受容体、作用機序は特定されていない。既報より module-4 (M4) が線維化に寄与していることが示唆されているが、*in vivo* で証明した報告はない。今回、M4 欠損 CCN2 を発現する遺伝子改変マウスを作製し、M4 が線維化に関わる機序の詳細な検討を行った。（298 字）

【対象と方法】

CCN2 の線維化に関与する機能部位として M4 に着目した。M4 をコードする exon5 を欠損させた M4 欠損 CCN2 分泌マウスを作製し (Ex5^{-/-})、対照には E5^{+/+}を用いた。同マウスに CKD モデルを作製し、腎間質線維化を組織所見、定量的 PCR で検討した。またウェスタンブロット (WB) を用いて細胞内シグナルも検討した。さらに M4 を模倣したデコイペプチド (DC) を作製し、*in vivo*、*in vitro*での作用を検討し、その細胞内シグナルへの影響を解析した。（227 字）

【結果】

作製した CKD モデルの腎組織において線維化領域面積、および線維化関連遺伝子の発現はコントロールと比較し Ex5^{-/-}において有意に低下した ($p < 0.01$)。また閉塞性腎障害モデル (UUO) の WB において Focal Adhesion Kinase (FAK) のリン酸化が Ex5^{-/-}で有意に抑制された ($p < 0.05$)。同検体の免疫染色では抗 p-FAK 抗体が尿細管上皮細胞 (TEC) に集積し、Ex5^{-/-}マウスで減弱していた。Ex5^{+/+}マウスで UUO を作製し DC を投与したところ Ex5^{-/-}マウス同様に線維化が抑制され TEC における p-FAK の集積も抑制された。ヒト尿細管上皮細胞株 (HK-2) を用いて血清刺激下に

DC を添加したところ、FAK、Akt、GSK-3b、および p38 のリン酸化が抑制された ($p < 0.05$)。 (354 字)

【考察】

過去の既報から腎間質線維化に CCN2 の C 末端が寄与していることが報告されているが、*in vivo* で遺伝子改変マウスを用いた検証はなされてこなかった。また、特異的な細胞内シグナルも Smad、FAK、Wnt など様々であり特定には至っていない。本研究は CCN2 の線維化に関わる機序に関して、M4 欠損マウスを用いることで、腎線維化に関わる CCN2 の機能モジュールとそのシグナル伝達を初めて *in vivo* で証明した。 (201 字)

【結論】

CCN2 は M4 を介した TEC における FAK のリン酸化によって腎間質線維化を促進する。腎間質線維化を抑制するためには、M4-FAK 経路が有効な治療ターゲットであると考えられる。 (87 字)