

氏名(本籍)	おか だ こう すけ 岡 田 浩 介 (北 海 道)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 5108 号		
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Ursodeoxycholic acid stimulates Nrf2-mediated hepatocellular transport, detoxification, and antioxidative stress systems in mice (ウルソデオキシコール酸は転写因子 Nrf2 を活性化し肝細胞の輸送, 解毒代謝, 抗酸化ストレス応答を賦活化する)		
主 査	筑波大学教授	医学博士	玉 岡 晃
副 査	筑波大学准教授	医学博士	坂 本 透
副 査	筑波大学准教授	医学博士	島 居 徹
副 査	筑波大学准教授	博士(医学)	角 大 悟

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的) 胆汁酸製剤である Ursodeoxycholic acid (UDCA) は胆汁うっ滞症の治療薬として広く使用されており, その薬理効果の背景には胆汁分泌促進, 肝解毒代謝や抗酸化ストレス応答の賦活化が指摘されているがそれらの分子メカニズムの詳細はなお不明な点が多い。Nrf2 は生体のストレスセンサーとして生体防御に重要な役割を果たし, Phase III において肝細胞外への排出を担当する肝輸送担体 Mrp family についても Nrf2 によって制御されていることが報告されている。以上より本研究においては, (1) Nrf2 過剰発現モデルである Keap1 knockdown (kd) マウスにおける Mrp family を含む肝輸送担体の発現について解析するとともに, (2) UDCA が in vitro および in vivo において Nrf2 を活性化するかどうか, (3) UDCA が Nrf2 を介して肝輸送担体 Mrp family, 肝解毒代謝酵素および抗酸化ストレス応答遺伝子群を誘導するかどうか, を明らかにする。

(対象および方法) まず Nrf2 過剰発現マウスである Keap1-kd マウスの肝における肝輸送担体の発現を解析し, 次に In vitro および in vivo における UDCA の Nrf2 活性化作用を検討した。また, 野生型 WT および Nrf2-null マウスに UDCA を 1% 混餌食で 1 週間投与し, 肝輸送担体, 解毒代謝酵素および抗酸化ストレス応答遺伝子の発現を解析した。マウスにおける UDCA の作用がヒトにおいても相同であることを確認するために, ヒト肝キメラマウスに UDCA を投与し, 肝臓における Nrf2 および輸送担体の発現を解析した

(結果) Keap1-kd マウスにおいて, 肝毛細胞管膜側に存在する Mrp2, 類洞膜側に存在する Mrp3, Mrp4 の基礎発現が WT マウスと比較して有意に増加し, 免疫染色における局在も増加していた。UDCA は in vitro および in vivo で Nrf2 を活性化した ChIP assay においても UDCA は Nrf2 を介して Mrp2, Mrp3, Mrp4 の発現を増加させた。UDCA 投与マウス肝においては, 胆汁酸濃度の変化が認められたが, WT と Nrf2-null マウス間で明らかな変化は認められなかった。UDCA 投与マウスでは, 肝輸送担体 Mrp2, Mrp3, Mrp4 の発現が有意に増加したが, その作用は Nrf2-null マウスで消失または減弱した。また, UDCA 投与によって, 肝解毒酵素である Nqo1, Gsta2, Ugt1a1, 抗酸化ストレス応答遺伝子である γ -Gcs, Prx I の発現が対照と比較して有意に増加した。Nqo1, Gsta2, γ -Gcs におけるこの作用は, Nrf2-null マウスにおいては低下して

いた。ヒト肝キメラマウスでも、UDCA 投与によって Nrf2 の発現が増加し、MRP2, MRP3, MRP4 の発現も対照と比較して有意に増加しており、マウスにおける UDCA の作用がヒト肝においても確認された。

(考察) 以上の結果から、(1) Nrf2 は肝輸送担体 Mrp2, Mrp3, Mrp4 の発現を制御する、(2) UDCA は Nrf2 を活性化する、(3) UDCA は Nrf2 を介して肝細胞の輸送、解毒代謝、抗酸化ストレス応答を賦活する、(4) Mrp family に対する UDCA の作用は、マウス肝のみならずヒト肝でも認められる、ことが明らかとなった。

(結論) UDCA は Nrf2 を活性化し、肝細胞の輸送、解毒代謝、抗酸化ストレス応答を賦活した。Nrf2 は胆汁うっ滞性肝疾患の今後の新規治療における分子標的として重要であると考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、Ursodeoxycholic acid (UDCA) が Nrf2 の活性化を介して肝輸送担体 Mrp family, 解毒代謝酵素, 抗酸化ストレス応答遺伝子を誘導することを、定量性 PCR, immunoblot, 免疫染色などを用いて明らかにしている。UDCA が如何にして Nrf2 を活性化するかは今後の課題であるが、本論文で得られた結論は明確であり、胆汁うっ滞性肝疾患の治療における分子標的として Nrf2 の意義を提起した点で臨床的にも重要な知見を確立している。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。