

氏名（本籍）	馬場 伊津子
学位の種類	博 士（生物工学）
学位記番号	博 甲 第 7360 号
学位授与年月日	平成 27 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	生命環境科学研究科

学位論文題目 **Studies on Pharmacological Roles for Inhibitors of Rho Kinases**  
(Rho キナーゼ阻害剤の薬理学的研究)

主査	筑波大学教授	農学博士	深水 昭吉
副査	筑波大学教授	博士（農学）	谷本 啓司
副査	筑波大学准教授	博士（薬学）	木村 圭志
副査	筑波大学講師	博士（農学）	石田 純治

## 論 文 の 要 旨

高齢化社会を迎えた日本において国民の 8 人に一人が慢性腎臓病（CKD）に罹患している。多くの CKD 患者は最終的に人工透析導入を余儀なくされ、患者の QOL、生命予後、医療費の面からも問題となっている。CKD では原疾患に関係なく腎組織障害の進行とともに不可逆的な器質の変化である腎線維化が認められ、腎線維化抑制が CKD 進行の抑止、透析導入の回避に繋がると考えられている。Rho-associated coiled-coil kinase (ROCK)には、2つの isoform (ROCK1、ROCK2) が存在しており、近年、ROCK 阻害剤の Y-27632 や fasudil を用いた検討により、一側輸尿管閉塞(UUO)による腎線維化に ROCK が関与することが報告されている。しかしながら、ROCK1 ノックアウトマウスを用いた UUO モデルでの検討では腎線維化の抑制は認められず、薬理的な ROCK 阻害との相違や ROCK2 の関与など腎線維化と ROCK について未だ不明な点が多い。このような背景のもと、著者は ROCK と腎線維化の関連性について明らかにするために、1) ROCK2 が腎線維化に寄与している可能性、2) 薬理的 ROCK 阻害による腎線維化抑制、3) 薬理的 ROCK 阻害による腎遺伝子発現の変動について検討した。

1) ROCK2 ヘテロノックアウトマウスを用いた UUO モデルでの検討の結果、ROCK2 の部分的抑制では ROCK 活性は野生型と欠損型とで同等であり、腎線維化抑制は認められない事を示した。2) UUO モデルへの fasudil 投与の結果、腎組織中の $\alpha$ SMA 発現量増加抑制、及びマクロファージ浸潤抑制を介して腎線維化が抑制されることが示した。次に、培養細胞を用いた解析を実施し、fasudil の線維化抑制作用は、直接、尿細管上皮細胞、間質線維芽細胞の形質転換を阻害する事で作用を示す事を明らかにした。更に、fasudil は ROCK 活性阻害だけでなく TGF $\beta$ -Smad 経路の部分的抑制作用も有する事を示した。3)

UUOモデルへの fasudil 投与後の腎組織における遺伝子変動を解析するためDNAチップを用いて実施した結果、fasudil の線維化抑制作用は TGFβ-Smad 以外のシグナル経路にも寄与していることが示唆された。以上の結果から、腎線維化の進行過程における ROCK 阻害剤の持つ幅広い薬理学的作用点の解明と、ROCK 阻害剤の CKD 進行を抑制する薬剤としての可能性が示された。

## 審 査 の 要 旨

本研究では、ROCK 阻害剤は腎固有細胞に直接作用して、線維化の原因となる筋線維芽細胞への形質転換の抑制、更に間質へのマクロファージの浸潤を抑制し、腎組織の線維化を抑止する事を示した。

ROCK 阻害剤は、UUO モデル以外の病態モデル動物に対しても組織保護作用を示す多くの知見が存在する事から、腎間質での炎症反応拡大に関して、マクロファージ以外の白血球系細胞及び骨髄由来幹細胞等の浸潤抑制、炎症性メディエーター産生の抑制、血管内皮細胞の障害抑制作用を示し、過剰な線維化進行を抑止している可能性を示唆していた。

日本の臨床応用では脳血管攣縮時での投与のみとされているが、急激な血圧低下を惹起させない用法での投与が可能であれば、多くの腎疾患患者に対して有効性を示す可能性を強く示唆していた。日本だけでなく世界的にも CKD 患者の増加と透析導入による QOL の低下、医療費の増大は重要な問題である事から、ROCK 阻害剤の薬剤開発は有意義であると考えられ、本研究結果がその一助となる事が期待される。

UUO モデルは尿管を永久結紮しているため、薬剤投与で線維化の完全治癒は望めず、その時点での病態進行を抑制するモデルとして位置付けていた。また、線維芽細胞を用いたα-SMA や collagen 産生は、再現性良く評価する事ができ、線維化の初期ステップである形質転換抑制の評価系としての可能性がある事から、これらの系は腎線維化抑制薬のスクリーニングに非常に有用であると考えられ、今後、腎線維化抑制薬の開発が期待される。

以上のように、著者は、ROCK 阻害による腎線維化抑制作用を in vivo 及び in vitro の両面から証明し、ROCK 阻害剤の臨床応用の可能性を示し、更には今後の腎線維化抑制薬の開発への可能性を示したと判断される。

平成 27 年 1 月 21 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員の出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有する者として認める。