

論文内容の要旨

論文提出者氏名 池田 葵尚

論文題目

Diverse receptor tyrosine kinase phosphorylation in urine-derived tubular epithelial cells from autosomal dominant polycystic kidney disease patients.

論文内容の要旨

背景

常染色体優性多発性嚢胞腎 (Autosomal dominant polycystic kidney disease : ADPKD) は約 1000 人に 1 人の割合で生じる最も一般的な遺伝性腎疾患である。ADPKD は尿管上皮細胞の繊毛上のポリシスチン 1 とポリシスチン 2 をそれぞれコードしている *PKD1* と *PKD2* の遺伝子異常により生じるとされている。ADPKD の臨床像は *PKD1* もしくは *PKD2* の同じ遺伝子変異を持っていたとしても患者間で異なっている。このことは、他の疾患を修飾する遺伝子の発現もしくは ADPKD の分子メカニズムに多様性がある可能性を示唆するが、詳細はよくわかっていない。

現在までに ADPKD では病態進展に様々なキナーゼとその下流経路が活性化していることが知られており、今回我々は receptor tyrosine kinase (RTK) のリン酸化の多様性に着目した。

方法

6 人の ADPKD 患者と 4 人の健康ボランティアからの尿検体を使用し、尿由来尿管上皮細胞の初代培養 (urine-derived tubular epithelial cells : uTECs) を行った。そのうち、遠位尿管のマーカーである solute carrier family 12 member 3 (SLC12A3) 陽性である細胞群を不死化し細胞株を樹立した。その細胞株を使用して RTK のリン酸化の多様性を網羅的に phospho-RTK array で検討した。phospho-RTK array では、hepatocyte growth factor (HGF) の受容体である Met を含むいくつかの RTK のリン酸化の多様性を認めた。尿由来尿管上皮細胞株に対して Met の特異的阻害薬である golvatinib の投与と Met のノックダウンを行い細胞増殖能と細胞内シグナルについて検討した。

また、ADPKD の嚢胞を模したモデルとして Madin-Darby canine kidney (MDCK) 細胞の三次元培養を用いて HGF と golvatinib の投与による嚢胞形成能への影響を検討した。

結果

phospho-RTK array では EGFR, Met, Axl といった RTK のリン酸化の程度が細胞株間で異なっていた。この中で特に Met のリン酸化は control に比して ADPKD 群で亢進しており、ADPKD 間で亢進の程度に差を認めた。

uTECs に Met の特異的阻害薬である golvatinib の投与と Met のノックダウンを行うと、phospho-RTK array で自発的に Met のリン酸化が亢進していた細胞株でのみ細胞増殖能を抑制することができ、AKT や Erk といった細胞内シグナルのリン酸化の抑制を認めた。また、HGF の投与では、全ての細胞群で細胞増殖能は亢進し、AKT と Erk のリン酸化も亢進した。

MDCK の三次元培養では、HGF 投与により嚢胞数と嚢胞総面積は増大し、golvatinib 投与により嚢胞数と嚢胞総面積の抑制された。そして、嚢胞が大きくなり始めた後から golvatinib の投与を開始しても嚢胞総面積の抑制効果を認めた。

結論

ADPKD において uTECs での RTK のリン酸化の多様性を分析すると、ある患者では Met のリン酸化の亢進を認めた。簡便に採取できる尿の検体を使用し、患者由来の uTECs に対する golvatinib の効果を検討することにより、ADPKD の個別化医療として適切な治療薬の選択に役立つ可能性がある。