

夏志銀論文内容の要旨

主 論 文

Suppression of renal tubulointerstitial fibrosis by small interfering RNA targeting heat shock protein 47

(HSP47 siRNA 投与による腎間質線維化抑制効果の検討)

夏志銀 阿部 克成 古巢 朗 宮崎 正信 小畑 陽子 田畑 泰彦
小路 武彦 河野 茂

American Journal of Nephrology, 2007, in press, 14 pages

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：河野 茂 教授)

緒 言

RNA interference は、遺伝子発現を抑制する方法として注目されている。また、カチオン化ゼラチン粒子(CGM)を用いた遺伝子導入法は、導入した遺伝子の徐放期間の調節が可能であり、様々な遺伝子治療への応用が期待されている。今回我々は、コラーゲン特異的シャペロンである HSP47 をターゲットとした siRNA を作成し、CGM を用いた導入により腎間質線維化を抑制し得るかどうかを検討した。

対象と方法

- 1) デザインした HSP47 siRNA を NIH3T3 細胞に導入し、Western blotting で、HSP47 の発現抑制効果を検討した
- 2) HSP47 siRNA を FITC で標識 (FITC-HSP47 siRNA) し、FITC-HSP47 siRNA と FITC-HSP47 siRNA を含有した CGM (FITC-HSP47 siRNA-CGM) を一側の尿管より注入し、腎臓における HSP47 siRNA-CGM の分布と発現期間を検討した。
- 3) 腎間質線維症を惹起する目的でマウス一側尿管結紮 (UUO) モデルを作成し、作成時に HSP47 siRNA と HSP47 siRNA-CGM を投与した。結紮 7、14 日後に腎臓を摘出し、間質の線維化とコラーゲンの発現を Masson trichrome 染色にて、HSP47 並びにコラーゲン I、III、IV の発現を免疫組織染色にて検討した。

結 果

- 1) in Vitro: NIH3T3 細胞に Vehicle (PBS)、GFP siRNA、HSP47 siRNA を加えると、HSP47 siRNA 投与群にて HSP47 の発現は減少した。
- 2) FITC 標識した HSP47 siRNA の尿管注入後 7 日目において、siRNA が尿管上皮細胞並びに腎間質細胞に取り込まれていることを確認した。14 日の群では、その発現は消失していた。一方、FITC 標識した HSP47 siRNA-CGM では、14 日目まで siRNA の持続した発現が認められた。

3) UUO モデルにおいて、HSP47 siRNA 投与群でコントロール群に比し、7日目までは腎間質の線維化並びに HSP47、コラーゲン I、III、IV の発現が有意に抑制された。しかし、14 日目ではそれらの発現は増強し、siRNA による抑制効果は持続しなかった。そこで、siRNA による遺伝子発現抑制効果を持続させる目的で、CGM を用いて siRNA を投与した。その結果、投与後 14 日目まで HSP47 とコラーゲンの発現が抑制された。

考 察

腎間質線維症モデル(UUO)において、HSP47 siRNA 投与により、間質線維化が抑制されることが示唆された。カチオン化ゼラチン粒子を用いることにより、HSP47 発現抑制期間の調節が可能であり、今後臨床応用への可能性を検討していく必要があると考えられた。