



Expression of type I , II , and III transforming growth factor- β receptors in acute self-limited and chronic progressive anti-thymocyte serum nephritis

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 渡邊, 卓哉 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1125

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 272号	学位授与年月日	平成11年 3月26日
氏名	渡邊卓哉		
論文題目	<p>Expression of type I, II, and III transforming growth factor-β receptors in acute self-limited and chronic progressive anti-thymocyte serum nephritis (抗胸腺細胞抗体を用いた急性可逆性胃炎、慢性進行性胃炎両モデルにおける transforming growth factor-β タイプ I, II, III レセプター発現の検討)</p>		

博士(医学) 渡邊卓哉

論文題目

Expression of type I, II, and III transforming growth factor- β receptors in acute self-limited and chronic progressive anti-thymocyte serum nephritis

(抗胸腺細胞抗体を用いた急性可逆性腎炎、慢性進行性腎炎両モデルにおける transforming growth factor- β タイプ I、II、IIIレセプター発現の検討)

論文内容の要旨

(はじめに)

ラットに抗胸腺抗体を単回投与すると一過性のメサンギウム増殖性腎炎を生じ、1週間隔での2回投与では糸球体硬化と間質の線維化を伴った慢性進行性の腎炎に進展する。急性抗胸腺抗体腎炎では抗体投与後7日をピークとした細胞外基質の沈着増加に関与するサイトカインである transforming growth factor- β (TGF- β) の一過性増加、慢性抗胸腺抗体腎炎では TGF- β の持続発現を認める。TGF- β は主に TGF- β タイプ I、II、IIIレセプター (T β R I、II、III) に結合し、そのシグナルトランスダクションには T β R I、IIの双方が必要である。近年、種々の悪性疾患、動脈硬化病変等で、TGF- β レセプター (T β R) の発現の変化や機能異常が報告されているが、腎炎における T β R の発現は未だ十分に検討されていない。

今回我々は急性可逆性、慢性進行性抗胸腺抗体腎炎における T β R I、II、IIIの発現と、疾患プロセスへの関与を検討した。

(材料ならびに方法)

実験は雄の Wistar rat 150 g、186匹を3群に分け、day0に抗胸腺抗体0.5ml、day7に正常血清0.5mlを投与した急性抗胸腺抗体腎炎、抗胸腺抗体0.5mlを day0、day7の2回投与する慢性抗胸腺抗体腎炎、正常血清のみ投与したコントロールとして、各レセプターの蛋白発現を免疫染色と免疫電顕で、mRNA発現を in situ hybridization 法で、各腎炎ラットより単離した糸球体の TGF- β 1に対する細胞増殖抑制と基質産生増加の反応性の変化を³H-thymidineと³H-proline incorporation assayで検討した。

(結果)

正常糸球体では糸球体内皮細胞、糸球体上皮細胞、ポウマン囊上皮細胞、遠位尿細管、間質毛細血管、間質細小動脈内皮に T β R I、II、III各蛋白と mRNA の弱い発現が認められた。急性抗胸腺抗体腎炎 day3 では T β R I、II、III各蛋白と mRNA 発現の増強が糸球体内皮細胞、糸球体上皮細胞、ポウマン囊上皮細胞、メサンギウム細胞で認められ、day7では T β R I、III蛋白、mRNA 発現の増強が糸球体内皮細胞、糸球体上皮細胞、ポウマン囊上皮細胞、増殖メサンギウム細胞で認められた。これに対し T β R IIは増殖メサンギウム細胞において蛋白、mRNAとも発現の増強が認められなかった。慢性抗胸腺抗体腎炎 day14では T β R I、II、III全ての蛋白、mRNA day56では硬化性糸球体病変部に加え尿細管間質病変部にも T β R I、II、IIIの強い発現が認められた。

コントロール、急性抗胸腺抗体腎炎 day3、7、14、慢性抗胸腺抗体腎炎 day14の各単離糸球体を用いた外因性 TGF- β 1刺激下³H-thymidineと³H-proline incorporation assayにおける細胞増殖抑制効果、基質合成促進効果では急性抗胸腺抗体腎炎 day7では他と比較して有意に TGF- β 1刺激に対する反応性の

低下が認められた。

〔考察〕

培養メサンギウム細胞では外因性 TGF- β による TGF- β の自己誘導と T β R II の発現抑制作用が報告されている。今回の検討により、急性抗胸腺抗体腎炎では T β R II の発現が低下して TGF- β による増殖抑制を受け難い様に形質変化したメサンギウム細胞が、抗胸腺抗体によるメサンギウム融解で細胞が減少したメサンギウム領域で速やかに増殖して病変を修復する事、及び、慢性抗胸腺抗体腎炎では、T β R I, II, III 全ての発現が糸球体と尿細管間質病変で持続性に増強する事が糸球体硬化と間質線維化の進行に関与する可能性が示唆された。

〔結論〕

慢性進行性抗胸腺抗体腎炎では急性可逆性抗胸腺抗体腎炎と異なり、増殖メサンギウム細胞、尿細管間質においても T β R の持続した発現の増強が認められ、T β R の発現の変化に伴う TGF- β に対する細胞の反応性の変化が、可逆性、あるいは進行性といった腎炎の進展の差違に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

近年、悪性腫瘍や動脈硬化症の局所病巣において、免疫抑制作用、細胞外基質の沈着増加、血管新生促進、細胞増殖抑制作用など、多彩な生物活性を発揮する Transforming growth factor- β (TGF- β) に対するリセプター (T β R) の発現の変化や機能異常がみられ、それが病態の進展と密接に関連することが報告されている。申請者は急性可逆性腎炎や慢性進行性腎炎において TGF- β の発現が増強することから、腎炎組織の病態の進展において TGF- β に対するリセプター (タイプ I、II、III) の発現が関与するのではないかという仮説を立て、抗胸腺抗体の投与により急性可逆性、および慢性進行性腎炎ラットを作成し、それを用いて T β R I、II、III の発現と病態の進展との関連を検討した。

審査委員会において審査の結果評価された点は次のとおりである。

1. 本研究で用いられた材料、および方法は研究目的を解明する上で適切であると判断された。すなわち、成熟雄ウイスターラットを用い、抗胸腺抗体 (0.5ml) を 1 回投与して急性メサンギウム増殖性腎炎を惹起させ、一方一週間間隔で 2 回投与して慢性進行性腎炎をそれぞれ実験的に惹起させた。対照ラットには正常血清を投与した。腎組織における T β R I、II、III 蛋白の発現は、抗ヒト T β R I、T β R II、T β R III ウサギ抗体を用い biotin-streptavidin-per-oxidase による免疫組織化学的染色法と免疫電顕法で検索した。

mRNA の発現は in situ hybridization 法で、さらに単離糸球体の細胞増殖と基質産生増殖は、 3 H-thymidine 摂取能と、 3 H-prolin 摂取能でそれぞれ検索した。

2. 実験的急性腎炎では、抗胸腺抗体投与約 3 日目で T β R I、II、III 各蛋白と mRNA 発現の増強が、糸球体の内皮細胞と上皮細胞、ボウマン嚢上皮細胞、およびメサンギウム細胞で認められた。ところが、T β R II の発現増殖はメサンギウム細胞には認められなかった。

これらの所見から申請者は急性腎炎では T β R II の発現が低下したことにより、メサンギウム細胞が TGF- β 抵抗性に形質変化を起こし、速やかに増殖し病態の修復を起こすと推論した。

3. 慢性腎炎では14日目にT β R I、II、IIIのすべてが、蛋白レベルおよびmRNAレベルとも糸球体の硬化症病変部で強く発現した。56日目では尿細管間質の病変部にまでその変化が及んでいた。

これらの所見から申請者は、すべてのT β R I、II、III蛋白の発現が病変部で持続的に増強することが、糸球体硬化と間質の線維化に密接に関与すると考察している。

4. in vitro 系において単離糸球体にTGF- β 1を添加してその効果をみたところ、急性腎炎7日目の糸球体ではTGF- β 1の細胞増殖抑制作用と基質合成促進作用に対する反応性が低下していた。したがって、7日目にメサンギウム細胞が増殖してTGF- β 1に対し抵抗性を示すようになったものと推論した。

以上の結果に対し審査委員会では、本研究は可逆性腎炎、および進行性腎炎の進展において、糸球体上皮細胞、増殖メサンギウム細胞、尿細管間質でのT β Rの発現が密接に関連することを明らかにし、急性腎炎の可逆性変化と、慢性腎炎での進行性変化の機構の違いを解明する上できわめて示唆に富むものであると高く評価された。

口頭発表に際し次のような質問がなされた。

- 1) 実験動物としてウイスターラットを用いた理由
- 2) T β R I、II、III蛋白の抗原エピトープについて
- 3) T β R蛋白の発現部位について
- 4) T β R Iのリン酸化が起こる部位について
- 5) 単離糸球体の純度について
- 6) メサンギウム細胞を単離して解析したか
- 7) 腎間質マクロファージの関与を検討したか
- 8) T β Rノックアウトマウスで検討したか
- 9) 腎糸球体に対してTGF- β はアポトーシス作用を発揮しないか
- 10) TGF- β は急性腎毒性や阻血腎に関係しないか

これらの質問に対する申請者の解答は概ね適切であり、本研究での問題点を十分把握しており、本論文は博士（医学）の学位論文にふさわしい内容を備えていると審査委員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 山下 昭

副査 教授 筒井 祥博 副査 助教授 鈴木 和雄