

論 文 内 容 要 旨

題目

Conditional Deletion of Smad1 Ameliorates Glomerular Injury in Progressive Glomerulonephritis
(Smad1 の条件付き遺伝子削除は進行性糸球体腎炎による糸球体傷害を改善する)

著者

Makoto Araki, Takeshi Matsubara, Hideharu Abe, Kazuo Torikoshi, Akira Mima, Noriyuki Iehara, Atsushi Fukatsu, Toru Kita, Hidenori Arai, and Toshio Doi

平成 28 年 8 月 5 日発行 Sci Rep. 6 巻 31216 に発表済

内容要旨

末期腎不全患者数が増加し続けていることから、そのメカニズムを解明し、新規治療戦略を見いだすことは急務である。糸球体腎炎は、末期腎不全の主たる原因の一つである。糸球体腎炎は、炎症により細胞が増殖するとともに細胞外マトリックスの過剰産生が起こり、最終的に糸球体毛細血管が閉鎖/ネフロン消失に至る。しかしながら、腎炎における増殖と硬化の関係性については未だ判っていない。我々は硬化の端緒を調べることで、その分子機構を見いだせるのではないかと考え、研究を開始した。解析対象としては、急性かつ進行性腎障害のモデルである進行性腎障害モデル (NTN: accelerated nephrotoxic nephritis) を選択した。硬化の端緒としては、糖尿病条件下で細胞外マトリックスの主たる構成因子である IV 型コラーゲン (Col4) の転写を制御する Smad1 が、腎炎においても同様の役割を担うと仮説を立てた。

メサングウム領域の拡大および細胞増殖がおこる NTN21 日目にマウスを屠殺し、解析をおこなった。免疫組織検査上、Col4、Smad1、リン酸化 Smad1 (p-Smad1)、PDGF-BB、PDGF β R の発現が増強していた。PDGF-BB が病態形成に深く関わっていると考え、PDGF β R シグナル伝達作用を持つ APB5 を NTN マウスに投与したところ、糸球体内の Smad1 と Col4 の発現が相関関係をもって減少した。

次に、Smad1 の機能的な役割を確認するため、Smad1 コンディショナルノックアウトマウス (Smad1CKO マウス: Smad1-flox マウスに Rosa26 CreERT2 を掛け合わせ、タモキシフェン誘導下で遺伝子削除したもの) に NTN を惹起した。その結果、WT と CKO では細胞増殖の差は無く、PDGF-BB、PDGF β R およびリン酸化 STAT3 の発現にも差を認めないものの、硬化 (Col4 の発現) はあきらかに CKO

で改善していた。

上記結果から、Smad1 は硬化を抑制するものの、Smad1 非依存的に細胞増殖変化を支配する別の分子機構が存在すると予測した。そこで Id2 - VEGF-A に注目し、検討をおこなった。まず、Smad1CKO マウスを用いた NTN にて、Id2 - VEGF-A は Smad1 非依存的に増加することを確認した。次に、APB5 を用いた NTN にて、Id2 - VEGF-A は PDGF β R を通じた PDGF-BB の影響をわずかに受けることを確認した。最後に、培養メサンギウム細胞にて、通常 PDGF-BB は VEGF-A を介して STAT3 をリン酸化し、細胞増殖を来すが、Id2 をロックアウトしたメサンギウム細胞では、VEGF-A の発現および細胞増殖が抑制されていることを見いだした。

これらの結果は、腎炎において PDGF-BB は異なるシグナル伝達経路を用いて硬化 (Smad1-Col14) と増殖 (Id2-VEGF-A-STAT3) を支配しているという新機序を証明したものである。

論文審査の結果の要旨

報告番号	乙医第 1752 号	氏名	荒木 真
審査委員	主査 香美 祥二 副査 常山 幸一 副査 上原 久典		

題目 Conditional Deletion of Smad1 Ameliorates Glomerular Injury in Progressive Glomerulonephritis
 (Smad1 の条件付き遺伝子削除は進行性糸球体腎炎による糸球体傷害を改善する)

著者 Makoto Araki, Takeshi Matsubara, Hideharu Abe, Kazuo Torikoshi, Akira Mima, Noriyuki Iehara, Atsushi Fukatsu, Toru Kita, Hidenori Arai, and Toshio Doi

平成 28 年 8 月 5 日発行 Sci Rep. 6 巻 31216 に発表済
 (指導教授 土井俊夫)

要旨 透析患者数が増加し続けていることから、そのメカニズムを解明し、新規治療戦略を見いだすことは急務である。糸球体腎炎は末期腎不全に至る主要な原因の一つである。腎炎に侵された糸球体は、その炎症によって細胞増殖が惹起されると共に細胞外マトリックスの過剰産生が起こり、最終的にネフロンが消失する。しかしながら、腎炎における細胞増殖と糸球体硬化の関係性については未だ判っていない。

申請者は糸球体硬化の初期に IV 型コラーゲン (Col4) の過剰産生が起こる事に着目し、Col4 の転写制御因子である Smad1 が糸球体硬化と細胞増殖とを繋ぐ役割を担っていると仮説をたてて、研究を行った。

得られた結果は以下の如くである。

1. マウスの進行性腎障害モデル (NTN: accelerated nephrotoxic nephritis、Day21 で検討)において、免疫組織検査上、Col4、Smad1、リン酸化 Smad1(p-Smad1)、 Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)-BB、PDGF β 受容体 (PDGF β R) の発現が増強していた。
2. PDGF β R シグナル阻害作用を持つ APB5 を NTN マウスに投与したところ、糸球体内の Smad1 と Col4 の発現が相関関係をもって減少した。
3. Smad1 コンディショナルノックアウト (CKO) マウスに NTN を惹起したところ、Col4 の発現は明らかに CKO で改善していたが、コントロールと CKO では細胞増殖の差は無く、PDGF-BB、PDGF β R およびリン酸化 Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3) の発現にも差を認めなかった。
4. 上記結果から、Smad1 は硬化を抑制するものの、Smad1 非依存的に細胞増殖変化を支配する別の分子機構が存在すると予測した。そこで、Inhibitor of Differentiation 2 (Id2) - Vascular Endothelial Growth Factor-A (VEGF-A) に注目し、Smad1CKO マウスを用いた NTN にて、Id2-VEGF-A が Smad1 非依存的に増加することを確認した。
5. 更に APB5 を用いた NTN にて、Id2 - VEGF-A は PDGF β R を通じた PDGF-BB の影響をわずかに受けることを確認した。
6. 最後に、培養メサンギウム細胞にて、通常 PDGF-BB は VEGF-A を介して STAT3 をリン酸化し、細胞増殖を来すが、Id2 をノックアウトしたメサンギウム細胞では、VEGF-A の発現および細胞増殖が抑制されていることを見いだした。

本研究成果は、腎炎における硬化と増殖は異なるシグナル伝達経路、Smad1-Col4 経路、Id2-VEGF-A-STAT3 経路それぞれに制御されているという新機序を証明したものであり、学位授与に値すると判定した。