

氏名	やま だ こ ず え 山 田 こ ず え
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1316 号
学位授与の日付	平成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	農学研究科応用生物科学専攻
学位論文題目	The Mechanism of Extracellular Matrix Metabolism in the Hereditary Glomerulonephritis Mice (遺伝性腎疾患マウス腎における細胞外マトリックス代謝制御機構)
論文調査委員	(主 査) 教授 宮 本 元 教授 今 井 裕 教授 矢 野 秀 雄

### 論 文 内 容 の 要 旨

遺伝性腎疾患はヒトのみならず家畜でも多発する重篤な疾患である。遺伝性腎疾患はこれまでに有用な実験動物が見いだされていなかったため研究が進んでおらず、発症機序は今なお不明である。1986年に我が国で発見された遺伝性腎疾患(ICR-derived glomerulonephritis: ICGN) マウスは、新規の特発性腎炎のモデル動物として病因解明に貢献することが期待されている。

ICGN マウス病態の特徴として、タンパク尿、低タンパク血症、高脂血症、貧血が認められる。また組織学的特徴として、糸球体基底膜の肥厚、糸球体上皮細胞足突起の消失、メサンギウム領域、尿細管および尿細管間質領域の拡張があげられる。興味深いことに、基底膜、メサンギウムおよび尿細管間質領域は細胞外マトリックス(extracellular matrix: ECM) から構成されている。ECM は生体内において、細胞の支持、接着、増殖、移動など非常に重要な機能を担っている。腎炎をはじめ様々な疾患において、ECM の量的および局在の異常が病態の進行と密接な関係にあることが報告されている。そこで、本研究では ICGN マウス腎における ECM 代謝制御機構の異常について解明することを目指した。

本論文は 6 章より構成されており、主な内容は以下に示すとおりである。

1 章では、ICGN マウス腎における代謝制御について現在までの研究成果をとりまとめるとともに、本研究の概要を簡潔に述べている。

2 章では、ICGN マウス腎における各種 ECM 成分の局在を精査し、正常腎と比較検討した。すなわち各種 ECM の局在を免疫組織化学的に精査した。その結果、ICGN マウス腎において、各種 ECM がメサンギウム領域および尿細管間質に蓄積していることが明らかになった。さらに ECM 産生を亢進するトランスフォーミング成長因子が ICGN マウス腎において発現していることが分かった。

3 章では、第 2 章で述べた ECM 異常蓄積の原因の一つと考えられる ECM 分解系について精査した。すなわち ECM 分解酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP) 活性を測定した。その結果、正常マウス腎に比べ、ICGN マウス腎において MMP 活性が低下していることが明らかとなった。このことから、ICGN マウス腎において ECM 分解系抑制が ECM 蓄積の原因であることが分かった。

4 章では、ECM を介して細胞に伝達されているシグナルが病態の進行に関与しているかどうか検索した。すなわち ECM 受容体であるインテグリンの局在を免疫組織化学的に調べた。その結果、ICGN マウス腎においてインテグリンの局在が変化していることが明らかとなり、インテグリンが病態の進行に関与していることが示唆された。

5 章では、第 2 章で述べた ECM 異常蓄積の原因の一つと考えられる ECM 産生系について精査した。すなわち間質成分 ECM および基質成分 ECM mRNA の局在を *in situ* ハイブリダイゼーション法にて検索した。その結果、ICGN マウス腎において間質成分 ECM は発現が亢進しているが、基底膜成分は正常および ICGN マウス腎の間に有意な差は認められなかった。以上の結果から、ICGN マウス腎において ECM 産生系亢進が ECM 蓄積の原因の二つであること、間質と基底膜の

ECMでは異なる制御機構がはたらいていることが明らかになった。

6章は、本研究のまとめである。すなわち ICGN マウス腎において ECM 分解系抑制および産生系亢進により、ECM が異常蓄積することを解明した。さらに、間質と基底膜の ECM では異なる制御を受けることも示唆された。また、ECM と細胞とのクロストークの破綻が病態の進行に関与していることが確認できた。

### 論文審査の結果の要旨

遺伝性腎疾患はヒトのみならず家畜でも多発する重篤な疾患であるが、これまで有用な病態モデル動物が見いだされていなかったため、その発症機序は今なお不明である。1986年に我が国で発見された遺伝性腎疾患（ICR-derived glomerulonephritis: ICGN）マウスは、新規な遺伝性腎疾患モデルで、遺伝性腎疾患病因解明に貢献することが期待されている。本研究は、細胞の支持、接着、増殖、細胞死など多くの役割を担う細胞外マトリックス（extracellular matrix: ECM）が、ICGN マウス腎において異常蓄積していることに着目し、病態進行と ECM 代謝との関係を、*in vivo* にて明らかにすることを目的としたものである。評価すべき主な点は以下のとおりである。

1. ICGN マウス腎において、各種 ECM 成分の局在を免疫組織化学的方法を駆使し、ECM 成分が病態の進行とともに質的および量的に変化していくことを明らかにした。さらに ECM 産生を制御する因子であるトランスフォーミング成長因子の局在も検討した。これらの結果は ICGN マウス腎において、ECM の局在の推移が病態の進行に関連していることを明白にしたものである。

2. ECM 蓄積の原因の一つである ECM 分解系抑制に着眼し、ECM 分解酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）の活性を測定し、ICGN マウス腎において活性が低下していることを明らかにした。間質 ECM を特異的に分解する MMP も、基底膜 ECM を特異的に分解する MMP も、ともに低下していることを明らかにし、ECM 分解系の低下が ECM 蓄積の原因であることを裏付けている。

3. インテグリンは ECM 受容体であり、細胞と ECM 間でのシグナル伝達に重要なはたらきを担っている。ICGN マウス腎では、正常マウス腎と比較し、各種インテグリンの局在が変化していることを明らかにした。これらの知見は、インテグリンが遺伝性腎疾患病態進行に関与していることを裏付けている。

4. ECM 蓄積の原因の一つである ECM 産生系について、*in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて ECM 成分の mRNA の局在を明らかにした。その結果、ICGN マウス腎において、正常マウス腎と比較し、間質成分 ECM 産生が亢進していることを見いだした。このことは、ECM 産生系亢進が ECM 蓄積に関与していることを示唆している。

以上のように本論文は、ICGN マウス腎において、ECM 蓄積の制御機構を解析し、家畜やヒトに多発する遺伝性腎疾患において、ECM 蓄積が病態進行に深く関与していることを見いだすとともに、この ECM 局所的制御には成長因子および ECM 受容体が関与していることを明らかにしたもので、生体機構学、実験動物学および病理学に貢献するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成15年2月14日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。