

氏名	やなぎ たもと こ 柳 田 素 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2379 号
学位授与の日付	平成 13 年 3 月 23 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	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Gas6 as a central mediator of glomerular diseases. (糸球体疾患の中心的制御因子としての Gas6)
論文調査委員	(主査) 教授 小川 修 教授 中尾 一和 教授 北 徹

論 文 内 容 の 要 旨

【研究の背景と目的】

糸球体疾患は末期腎不全の原因の大半をしめ、その進展増悪機構の解明は腎不全患者、透析患者を減少させるために非常に重要である。糸球体疾患の進展の過程においては、メサンギウム細胞が増殖あるいは活性化され、細胞外マトリックスを産生し糸球体硬化を引き起こす。この増殖/活性化の過程において種々のサイトカインや増殖因子の関与が指摘され、それらの阻害剤や中和抗体が治療に試みられてきたが、いずれも十分な効果をもたらさなかった。糸球体疾患における治療薬としてビタミン K と拮抗する抗凝固剤であるワーファリンが使用されてきたが、その作用機序は必ずしも明らかではない。本研究ではビタミン K 依存性蛋白として発見された Gas6 (product of growth arrest specific gene 6) がメサンギウム細胞に類似した平滑筋細胞の増殖を促進させる事実に着目し、糸球体疾患における Gas6 の役割を明らかにするとともに、その治療への応用について検討した。

【メサンギウム細胞増殖因子としての Gas6】

腎メサンギウム細胞における Gas6 の役割を検討するために、Gas6 およびその受容体 Axl の発現を検討したところ、メサンギウム細胞は Gas6 およびその受容体 Axl を発現しており、しかも Gas6 を培地中に放出することが見いだされた。また Gas6 添加により Axl の細胞内ドメインのチロシンキナーゼがリン酸化され、 $[^3\text{H}]$ チミジン取り込みが用量依存性に増加した。またメサンギウム細胞培養上清に Axl の細胞外ドメイン (Axl-ECD) を添加すると、 $[^3\text{H}]$ チミジン取り込みが用量依存性に抑制された。ワーファリンを添加した場合にも $[^3\text{H}]$ チミジン取り込みは用量依存性に抑制されたが、同時にビタミン K を添加することによりワーファリンの抑制作用は拮抗された。ワーファリンによる細胞増殖抑制効果は 1.1-2.0 μM の濃度で認められたが、これは凝固能を指標とした従来の投与方法における血中濃度 (4-5 μM) と比して低濃度であり、この濃度であれば出血の合併症を最小限にして治療できる可能性が示唆された。

以上より Gas6 は細胞表面の Axl に結合することでメサンギウム細胞の増殖因子として働き、ワーファリンや Axl-ECD は細胞増殖抑制剤として有効である可能性が示された。

【実験腎炎の中心的制御因子としての Gas6】

次にメサンギウム細胞増殖性腎炎のモデルである Thy1 腎炎を用いて、*in vivo* における Gas6 の作用に関して検討した。Thy1 腎炎では第 2 病日からメサンギウム細胞の増殖が始まり、8 日目にピークとなる。Thy1 腎炎における Gas6 および Axl の発現を検討したところ、メサンギウム細胞領域において病勢に一致して増強した。さらに、このモデルにワーファリンおよび Axl-ECD を投与したところ、メサンギウム細胞増殖、蛋白尿は改善し、細胞外マトリックス産生が抑制された。さらにこのモデルにおいては病勢に一致して PDGF-B の発現増強が認められるが、ワーファリン、Axl-ECD による治療群においては PDGF-B の発現誘導も認められなかった。以上のことから、Gas6 は *in vivo* でもメサンギウム細胞増殖因子として作用することが明らかになったのみならず、他の増殖因子の発現を調節することによって腎炎の中心的な制御因子と

して作用している可能性が示された。さらに Gas6 の阻害剤としての Axl のアンタゴニストは腎炎の新たな治療薬としての可能性が期待される。

論文審査の結果の要旨

糸球体疾患では、増殖し活性化されたメサンギウム細胞が細胞外マトリックスを産生し、糸球体硬化を起こすと考えられるが、そのメカニズムは明らかでなく、治療法も確立されていない。以前より糸球体疾患の治療に、ビタミン K に拮抗する抗凝固剤ワーファリンが使用されてきたが、作用機序は不明であった。本申請者はビタミン K 依存性蛋白 Gas6 に着目し、糸球体疾患における Gas6 の進展増悪因子としての役割を明らかにすると共に治療への応用について検討した。

メサンギウム細胞は *in vitro* で Gas6 とその受容体 Axl を発現していた。また Gas6 添加で増殖亢進し、Axl の細胞外ドメイン (Axl-ECD) やワーファリン添加で増殖抑制された。次にメサンギウム増殖性腎炎のモデルである Thy1 腎炎を用いて *in vivo* における Gas6 の作用を検討した。Thy1 腎炎では Gas6/Axl の発現が病勢に一致して増強し、ワーファリン、Axl-ECD 投与によりメサンギウム細胞増殖、蛋白尿、細胞外マトリックス産生、PDGF の発現誘導が抑制された。

以上から Gas6 は *in vivo* でもメサンギウム細胞増殖因子として作用するのに加え、他の増殖因子の発現を調節して腎炎を多面的に制御しており、ワーファリンはその活性化を阻害して増殖を抑制する可能性が示された。さらに Axl-ECD は腎炎の新たな治療薬としての可能性があり、今後の研究が期待される。

したがって、本研究はメサンギウム細胞増殖過程の解明とその治療に寄与するところが多く、博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成13年3月2日実施の論文内容とそれに関する諮問を受け、合格と認められた者である。