

氏 名	み 美 馬 あきら 晶
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3018 号
学位授与の日付	平 成 18 年 9 月 25 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	Angiotensin II-dependent Src and Smad1 signaling pathway is crucial for the development of diabetic nephropathy (アンジオテンシン II に依存的な Src, Smad1 シグナル伝達系は糖尿病性腎症の進展に重要な役割をする)
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 尾 一 和 教 授 稲 垣 暢 也 教 授 松 田 道 行

論 文 内 容 の 要 旨

糖尿病性腎症を原疾患とする透析導入患者数は最も多く、全体の40%を占めるに至っている。糖尿病性腎症はいまだ増加し続けており、その発症進展阻止のためより本態に迫る成果が必要である。糖尿病性腎症は糸球体硬化を来す代表的疾患であり、それは細胞外基質産生、すなわちメサンギウム基質の拡大に特徴づけられる。メサンギウム基質を構成する代表的な主成分としては $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 鎖Ⅳ型コラーゲン (Col4) が特に重要であり、その増加と糸球体硬化は密接な関係がある。近年、終末糖化産物で刺激した培養メサンギウム細胞を用いた実験で、Col4 産生亢進を直接制御するキー分子として Smad1 が同定された。さらに、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット (STZ ラット) においてメサンギウム基質拡大を伴う腎病変が生じることを明らかにし、Smad1 が重要な役割を演じていることが明らかにされた (参考論文 1)。

糖尿病性腎症進展においてはレニン、アンジオテンシン (R-A) 系の関与を示す報告が多く、臨床的に糖尿病性腎症進展抑制にアンジオテンシン II (AngII) 受容体拮抗薬 (ARB) が用いられ、その有効性が示されている。しかしながらその分子レベルでの作用機序はほとんど明らかにされていない。そこで本研究では R-A 系を抑制する ARB を低用量投与することにより糖尿病性腎症におけるアンジオテンシン II の分子メカニズム、及びシグナル伝達機構を *in vivo*, *in vitro* において検討した。

糖尿病性腎症早期のモデルとして用いられる STZ ラット (参考論文 1, 2) を作成、対照群を加えた計26匹を対照群、対照群 + ARB, STZ ラット, STZ ラット + ARB の 4 群に分け、24週間飼育した。24週後、生化学所見、糸球体内銀染色陽性領域、さらに免疫組織染色及びウェスタンブロッティングにより Col4, 平滑筋 α アクチン (α -SMA), Smad1 の発現を検討した。その結果、STZ ラットは対照群に比べ、尿中アルブミン量、糸球体内銀染色陽性領域、Col4, α -SMA 発現、糸球体内 Smad1 の発現及びそれらのリン酸化の増加を示したが、これらは ARB 投与により低下した。また、4 群間において血圧の差は認められなかった。

培養メサンギウム細胞において AngII は Smad1 のリン酸化及び Col4 の発現を増加させ、それらは ARB により抑制された。シグナル伝達機構を解明するために AngII の下流に存在し、細胞増殖に関与する c-Src との関連を検討した。STZ ラットにおいては c-Src の発現、c-Src のリン酸化いずれもが対照群に比して増加し、それらは ARB で抑制された。また、培養メサンギウム細胞において c-Src の阻害剤である PP2 は AngII 刺激により亢進する Smad1 のリン酸化を抑制した。また、dominant negative Src, Src siRNA のいずれも AngII 刺激により亢進する Smad1 のリン酸化を抑制した。しかしながら、p44/42 MAP kinase kinase の阻害剤による Smad1 のリン酸化抑制は認められなかった。

本研究により、AngII が糖尿病性腎症におけるメサンギウム基質拡大に関与するメカニズムの一つとして c-Src を介した Smad1, Col4 へのシグナル伝達の役割が示された。このことは c-Src が糖尿病性腎症における新たな治療ターゲットになる可能性を示す。

論文審査の結果の要旨

糖尿病性腎症進展過程でレニン，アンギオテンシン系の関与を示す報告が多い。しかしながら，その分子レベルでの作用機序はほとんど明らかにされていなかった。近年，申請者らは糖尿病性腎症においてその主たる病変であるメサンギウム基質拡大の成因に Smad1 が関与していることを明らかにした。本研究では糖尿病モデルラットにレニン，アンギオテンシン系を抑制するアンギオテンシン II 受容体拮抗薬を低用量投与することにより，糖尿病性腎症におけるアンギオテンシン II を介したメサンギウム基質拡大の分子メカニズム，及びシグナル伝達機構を解析した。その結果，糖尿病モデルラットにおいては糸球体における 4 型コラーゲンの発現とともに c-Src と Smad1 の発現及びそのリン酸化が亢進し，アンギオテンシン II 受容体拮抗薬投与によりその発現増加及びリン酸化が抑制されることが明らかとなった。さらには培養メサンギウム細胞においてアンギオテンシン II は Smad1 のリン酸化及び 4 型コラーゲンの発現を増加させ，これらの発現亢進は c-Src を阻害することにより抑制された。以上よりアンギオテンシン II による糖尿病性腎症進展に c-Src，Smad1 を介したシグナル伝達経路が重要であることを明らかにした。

以上の研究は，糖尿病性腎症進展に関する分子機構を明らかにしたもので，今後の腎症進展機構の解明，診断治療への応用に寄与するところが大い。

したがって，本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認められる。

なお，本学位申請者は平成18年 8 月 7 日実施の，論文内容とそれに関連した試問を受け，合格と認められたものである。