

氏 名	すなもとまさあき 砂 本 正 明
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2049 号
学位授与の日付	平 成 10 年 9 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	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Expression of heat shock protein 47 (HSP47) is increased and antisense oligonucleotides against HSP47 suppress collagen accumulation in experimental glomerulonephritis. (実験腎炎で熱ショック蛋白 47(HSP47)の発現が増加し, HSP47 のアンチセンスでコラーゲンの蓄積が抑制された)
論文調査委員	(主査) 教 授 藤 田 潤 教 授 中 尾 一 和 教 授 北 徹

論 文 内 容 の 要 旨

分子シャペロンは蛋白の合成・分泌・フォールディング・構造形成の調節に必須である。Heat shock protein 47 (HSP47) は、コラーゲンに特異的な分子シャペロンであり、代表的な細胞外基質であるコラーゲンが小胞体内で生合成され、輸送される過程において重要な機能を果たしていると考えられる。糸球体腎炎はコラーゲンを始めとする細胞外基質がメサンギウム領域に蓄積して糸球体硬化症を呈するが、その特異的な分子シャペロンの役割は明らかでなかった。本研究では進行性腎障害の代表的モデルである腎全摘ラットにおけるHSP47の意義を糸球体硬化症との関連で研究し、さらにin vivoにおけるHSP47の役割を明らかにするために、腎炎モデルに対し、HSP47のアンチセンスを用いて発現抑制を試み、その病態を解析した。

まず、進行性腎障害のモデルとしてWistar系雄性ラットを用いて5/6腎摘ラットを作成し、1週、4週、7週、10週後の光顕における糸球体硬化病変と蛍光抗体法によるI型・IV型コラーゲン、HSP47の発現を検討した。腎全摘群では、週齢が進むに従って糸球体硬化が進行し、I型・IV型コラーゲンも増加した。コラーゲンの増加と並行してHSP47も増加し、HSP47の発現はコラーゲンの発現部位に一致していた。糸球体RNAのdot blotにて、7週目で腎全摘群では対照群と比較してI型コラーゲンは3.4倍、IV型コラーゲンは3.6倍、HSP47は2.8倍に増加していた。HSP47の増加は、in situ hybridizationにおいて硬化病変に一致して認められた。また、腎皮質のWestern blotにて腎全摘群でのHSP47の増加が確認された。

次に、Wistar系雄性ラットにThy-1抗体(0.75mg/kg)を静注してThy-1腎炎を作成し、同時にHSP47のセンスオリゴヌクレオチドまたはアンチセンスオリゴヌクレオチド(500 µg/kg)をmultilamellar liposome法を用いて左腎動脈から動注して8日後に左腎を摘出した。予備実験でオリゴヌクレオチドの導入効率を調べるためにFITC-ランダムオリゴを導入したところ、30分後には左腎の30-40%の糸球体に導入され、対側の右腎では約10%の糸球体のごく一部に導入された。尿細管や腎間質にはほとんど取り込みを認めなかった。Thy-1腎炎ラットにHSP47のアンチセンスオリゴヌクレオチドを導入した群(n=7)ではセンスを導入した群(n=6)と比較して蛍光抗体法の解析にてHSP47の発現が抑制され(p<0.001)、同時にI型コラーゲン(p<0.001)、IV型コラーゲン(p<0.001)も有意に減少していた。また、光顕組織ではアンチセンス群でコラーゲンの増加抑制に伴って糸球体硬化病変も有意に軽減されていた(p<0.001)。

以上より、分子シャペロンであるHSP47は糸球体障害の進行過程においてコラーゲンと共に増加し、糸球体硬化症の発症に深く関与し、その進行に不可欠であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究の目的はコラーゲンに特異的な分子シャペロンであるheat shock protein 47(HSP47)の糸球体硬化症における役割を明らかにすることである。

まず、進行性腎障害のモデルとして5/6腎摘ラットを作成した。腎垂全摘群では週齢が進むに従って糸球体硬化が進行し、I型・IV型コラーゲンも増加した。コラーゲンの増加と並行してHSP47も増加し、HSP47の発現はコラーゲンの発現部位に一致していた。

次に、Thy-1腎炎ラットにHSP47のアンチセンスを導入して発現抑制を試みた。アンチセンスを導入した群ではセンスを導入した群と比べて、HSP47の発現が抑制され、同時にI型・IV型コラーゲンも有意に減少した。また、糸球体硬化病変も有意に軽減されていた。

以上より分子シャペロンであるHSP47は糸球体硬化症の発症に深く関与し、その進行に不可欠であることが示唆された。

以上の研究は糸球体障害の進行過程におけるHSP47の役割の解明に貢献し、糸球体硬化症の発症機序の解明および治療に寄与するところが多い。

従って、本論文は博士(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10年7月23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。