

氏 名	なが え てつ や 永 江 徹 也
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2882 号
学位授与の日付	平 成 17 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	Rat Receptor-Activity-Modifying Proteins (RAMPs) for Adrenomedullin / CGRP Receptor: Cloning and Upregulation in Obstructive Nephropathy (ラットのアドレノメデュリン/CGRP 受容体活性修飾蛋白のクローニングと 腎間質線維化における発現亢進)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小 川 修 教 授 米 田 正 始 教 授 清 水 章

論 文 内 容 の 要 旨

腎間質線維化は種々の原因による進行性腎疾患において共通に認められ腎予後を規定する重要な所見であり、その病態の理解は新しい治療戦略へとつながる。この機序には transforming growth factor- β (TGF- β) やアンジオテンシン II をはじめとする液性因子の病因的意義が示唆されてきたが、その抑制系を含め未だ不明な点が多い。

アドレノメデュリン (adrenomedullin: AM) はヒト褐色細胞腫から単離同定された降圧利尿ペプチドであり、腎では糸球体や尿細管で autocrine/paracrine 調節因子として働く可能性が想定されている。一方その受容体は、AM/CGRP 共通受容体である 7 回膜貫通型のカルシトニン受容体様受容体 (calcitonin receptor-like receptor: CRLR) に膜 1 回貫通型である受容体活性修飾蛋白 (receptor-activity-modifying protein: RAMP) ファミリー (RAMP1, 2, 3) が結合して形成されることがヒト神経芽細胞腫由来細胞を用いて報告されたが、ヒト以外の種では不明である。本研究では、種々の疾患モデルが確立されているラットの RAMP ファミリーのクローニングを行い、腎臓を含む種々の臓器での遺伝子発現を検討した。さらに尿管結紮を施して進行性の線維化を誘導する腎間質線維化モデルラットを用いて、腎障害進行の過程における AM, CRLR および RAMP ファミリーの発現について検討した。

ヒト RAMP ファミリーの配列をもとに EST データベースを検索し、ラット心臓および腎臓 cDNA を用いて RT-PCR 法、RACE 法にてラット RAMP ファミリーのクローニングを行った。さらにラット各臓器における発現を Northern blot 法にて解析した。その結果、ラット RAMP1, 2, 3 はそれぞれ 148, 182, 147 アミノ酸より成る蛋白質で、ヒト RAMP ファミリーとアミノ酸配列で 65-85% の相同性を示した。いずれも広範な臓器に発現を認め、RAMP1 は脳、脂肪、胸腺、脾臓、大動脈に、RAMP2 は肺、脾臓、脂肪、心臓、腎臓に多く、一方 RAMP3 は腎臓、肺、脂肪、脳に特に強い発現を認めた。腎臓では RAMP2 および RAMP3 が主であり、RAMP1 の発現はごくわずかであった。

次に、200-250g の雄性 Wistar ラットを用いて腎間質線維化モデルである一側尿管結紮 (unilateral ureteral obstruction: UUO) を作製し、AM, CRLR および RAMP ファミリーの発現を検討した。UUO 施行後 6 日目および 14 日目に、摘出腎を用いてそれぞれの遺伝子発現を Northern blot 法により解析した。尿管結紮後、間質線維化の進行に伴って TGF- β の著しい発現増強とともに、6 日後より RAMP1 の顕著な発現亢進、およびそれに遅れて RAMP2, CRLR の明らかな発現亢進を認めた。一方、RAMP3 は有意の変化を示さず、AM は発現減少傾向を示した。以上の成績より、RAMP ファミリーは腎障害進行の病態で異なる調節機構を有することが示された。また、AM は細胞増殖や線維化に対して抑制作用を有することから、腎間質線維化の過程での RAMP1, 2 の発現亢進は AM/CGRP 受容体の活性化をもたらす、腎保護的に作用する可能性が示唆された。

本研究により、ラット RAMP ファミリーの一次構造と各臓器における発現が明らかとなった。さらに腎間質線維化をもたらす病態での発現亢進から、この系の活性化が線維化進展に対し防御的に働く可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

アドレノメデュリン (adrenomedullin: AM) は褐色細胞腫から単離同定された降圧利尿ペプチドであり、腎では auto-crine/paracrine 調節因子としての役割が示唆されている。AM の受容体は、同じファミリーに属する CGRP との共通受容体 (カルシトニン受容体様受容体: CRLR) に受容体活性修飾蛋白質 (RAMP) が結合して形成されることが報告されたが、ヒト以外の種では不明である。本研究では、ラットの RAMP ファミリーのクローニングを行い、種々の臓器での遺伝子発現を検討している。さらに腎間質線維化モデルラットを用いて、腎障害進行の過程における AM, CRLR および RAMP ファミリーの発現について検討が行われた。

ラット RAMP1, 2, 3 のアミノ酸配列はヒト RAMP ファミリーと高い相同性を示し、いずれも広範な臓器に発現を認めたが、腎では RAMP2 および 3 が主であった。腎間質線維化モデルにおいて、RAMP1 の顕著な発現亢進とそれに遅れて RAMP2, CRLR の明らかな発現亢進を認めた。一方 RAMP3 は有意の変化を示さず、AM は減少傾向を示した。これらの結果より、RAMP ファミリーは腎障害進行の過程で異なる調節を有することが示され、RAMP1, 2 の発現亢進は AM/ CGRP 受容体の活性化をもたらし、AM の抗線維化作用を考慮すると腎保護的に作用する可能性が示唆された。

以上の研究は腎線維化の病態解明に貢献するとともに AM 系が防御的に働く可能性を示し、新たな治療法の開発に寄与するところが多い。したがって、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17年2月22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。