

氏 名	よこ 横 い 井 ひで 秀 き 基
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2856 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	Role of Connective Tissue Growth Factor in Renal Tubulointerstitial Fibrosis (腎尿細管間質線維化における結合組織成長因子 CTGF の意義に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小 川 修 教 授 前 川 平 教 授 横 出 正 之

論 文 内 容 の 要 旨

腎間質線維化は進行性腎障害において共通に認められる特徴であり、腎予後とよく相関することが知られている。この機序には transforming growth factor- β (TGF- β) の中心的意義が示され、その抑制が試みられてきた。しかし TGF- β は抗増殖・抗炎症を含む多彩な作用を有することから、より線維化促進作用特異的な抑制療法の可能性が探求されている。新規成長因子である結合組織成長因子 (connective tissue growth factor: CTGF) は、TGF- β の線維化促進作用を媒介する可能性が示唆されているが、腎間質線維化における意義については不明である。本研究は CTGF の腎間質線維化における意義を解明することを目的として、*in vitro* においてはラット腎間質線維芽細胞を用いて、また *in vivo* においては腎尿細管間質線維化モデルラットを用いて CTGF の意義について検討した。

リポフェクション法により CTGF アンチセンス oligodeoxyribonucleotide (ODN) をラット培養腎線維芽細胞 NRK-49F に遺伝子導入し、TGF- β 1 刺激によるフィブロネクチン、I 型コラーゲン発現を Northern blot 法、Western blot 法を用いて検討した。さらにフィブロネクチンの転写活性を測定した。NRK-49F 細胞において CTGF アンチセンス ODN 導入により TGF- β 1 刺激下フィブロネクチンおよび I 型コラーゲン発現およびフィブロネクチン転写活性はコントロール ODN 導入群に比較し有意に抑制された。

200g 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 (UUO) を作製し、CTGF 発現の経時的変化と局在について検討した。次に UUO を施行し、その直後に経腎静脈的逆行性遺伝子導入法を用いて、腎臓特異的に CTGF アンチセンス ODN (200 μ g/750 μ l) またはコントロール ODN を遺伝子導入した。施術 7 日後に屠殺し、摘出腎を用いて組織学的および免疫組織化学的解析を行うとともに、種々の細胞外基質関連遺伝子発現の変化を検討した。UUO ラットにおいて、経時的に TGF- β 1 発現が増強し、それに引き続いて CTGF 発現が増強した。CTGF は主に間質細胞に発現することが示された。経腎静脈的遺伝子導入法を用いたアンチセンス ODN 導入ラットではコントロール ODN 導入群に比して、TGF- β 1 発現は変化せず、CTGF 発現のみ明らかに抑制された。これに伴って、細胞外基質であるフィブロネクチン、I 型コラーゲン遺伝子発現はともにアンチセンス ODN 導入群においてコントロール群に比し顕著に抑制され、組織学的にみた間質線維化についても明らかに改善を示した (線維化領域: 6.8% vs. 12.3%)。さらに、アンチセンス ODN 導入により myofibroblast への形質転換マーカーである α -平滑筋アクチン発現は有意に減少したが、細胞増殖マーカーである PCNA および Ki-67 は変化しなかった。以上より、間質線維化モデルにおいて CTGF は TGF- β の下流で働く線維化促進因子であること、この抑制により細胞増殖抑制を介さずに細胞外基質産生を減少させ、尿細管間質線維化の抑制をきたすことが示された。

本研究により、CTGF 抑制は腎間質線維化の改善にきわめて重要な役割を果たすことが明らかとなり、尿細管間質線維化をもたらす種々の進行性腎疾患において、CTGF 抑制がより特異的な治療標的となり得る可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

結合組織成長因子 (connective tissue growth factor: CTGF) は、TGF- β の下流に位置し線維化を媒介する可能性が示唆されているが、生体での役割は明らかでない。本研究は CTGF の線維化における意義を解明することを目的として、腎間質線維芽細胞およびラット腎間質線維化モデルを用いて CTGF の意義について検討したものである。

培養腎線維芽細胞に CTGF アンチセンス oligodeoxyribonucleotide (ODN) を導入することにより、TGF- β 刺激によるフィブロネクチンおよび I 型コラーゲン発現が明らかに抑制された。腎間質線維化モデルである一側尿管結紮 (UUO) ラットにおいて CTGF 発現が経時的に間質領域に増強した。さらに UUO ラットに経腎静脈的逆行性遺伝子導入法を用いて CTGF アンチセンス ODN を導入すると、TGF- β 1 発現は抑制されずに、CTGF 発現は抑制された。これに伴い、フィブロネクチン・I 型コラーゲン発現および myofibroblast への形質転換マーカーである α -平滑筋アクチンは顕著に抑制され、腎間質線維化は明らかに改善した。これらの結果より、腎間質線維化モデルにおいて CTGF は TGF- β の下流で働く線維化促進因子であること、この抑制により細胞外基質産生および間質の形質転換を減少させ、腎線維化の改善をきたすことが示された。

以上の研究は、腎疾患における間質線維化の機序解明に貢献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。