

氏 名	まつばら たけし 松 原 雄
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3012 号
学位授与の日付	平 成 18 年 5 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	Expression of Smad1 is directly associated with mesangial matrix expansion in rat diabetic nephropathy (Smad1 の発現はラット糖尿病性腎症におけるメサンギウム基質拡大と直接関連する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 稲 垣 暢 也 教 授 小 川 修 教 授 中 尾 一 和

論 文 内 容 の 要 旨

糖尿病腎症は末期腎不全の原因の中で最も多い疾患の一つであり、その病態の解明、治療法の開発が急務である。糖尿病性腎症の本態は糸球体硬化症であり、その病態はメサンギウム基質の拡大を伴った糸球体毛細血管の虚脱であると定義されている。従って糖尿病性腎症の病態解明や治療法の開発にはメサンギウム基質の拡大に関する分子機構を解明することが重要である。一方、微量アルブミン尿はこれまで腎症の診断指標として利用されてきたが、ヒト糖尿病性腎症初期病変の病理学的検討から、微量アルブミン尿が腎症早期のメサンギウム基質拡大を必ずしも反映していないことが示唆されており、その診断法確立が必要である。

メサンギウム基質を構成する代表的な成分の一つに 4 型コラーゲン (Col4) がある。近年、Smad1 が終末糖化産物による Col4 産生亢進を直接制御する因子であることが培養メサンギウム細胞を用いた実験で証明された。しかし、実際の生体内における役割については未だ不明である。そこで本研究では腎症早期のメサンギウム基質拡大における Smad1 の役割を *in vivo* で検討した。糖尿病性腎症早期のモデルとして使用されているストレプトゾトシン誘発糖尿病 (STZ) ラットを作成し、24 週後にメサンギウム基質部位を認識する銀染色を施行した後、糸球体内銀染色陽性領域を計測し、各個体のメサンギウム基質拡大の程度と、体重、血圧、血糖値、HbA1c、血清クレアチニンとの関係を検討した。その結果、メサンギウム基質拡大と上記指標との間に相関関係は認められなかった。また、早期腎症の機能的変化の指標であるアルブミン尿や糸球体濾過もメサンギウム基質拡大との相関は認められなかった。これらの結果より、腎症早期には生化学所見やアルブミン尿、糸球体過剰濾過はメサンギウム基質拡大の指標にならないことが示唆された。次に、免疫組織染色による Col4 陽性領域の計測及び、糸球体硬化の進展に重要なメサンギウム細胞の形質変化の指標である平滑筋 α アクチン (α -SMA) を単離糸球体蛋白のウェスタンブロッティングを用いて測定した。その結果、糸球体中の Col4、 α -SMA 共に、メサンギウム基質拡大と相関関係が認められた。さらに糸球体中 Smad1 の発現を免疫組織染色及びウェスタンブロッティングを用いて検討したところ、Smad1 は正常群では糸球体での発現がほとんどみられず、糖尿病群でのみメサンギウム領域に発現が亢進しており、その発現量と、メサンギウム基質拡大、糸球体 Col4 発現量、及び α -SMA 発現量との間には有意な相関が認められた。次に Smad1 の ELISA 測定系を確立し、各群の尿中 Smad1 の定量化を試みたところ、尿中 Smad1 とメサンギウム基質拡大との間に相関関係が認められた。また、培養メサンギウム細胞を用いて Smad1 を強発現させると、Col4 だけでなく α -SMA の転写活性も増強することが確認された。

本研究により、生体で、糖尿病性腎症早期病変であるメサンギウム基質拡大の成因に Smad1 が強く関連していること、また尿中 Smad1 が腎症早期におけるメサンギウム基質拡大の指標になり得ることが示された。さらに糖尿病性腎症で重要なメサンギウム細胞の形質変換と細胞外基質産生亢進という 2 つの異なった病態が Smad1 という共通の因子に起因する可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

糖尿病性腎症の病態を解明するためには、糸球体中のメサンギウム基質の拡大機構を解明することが必須であるが、その鍵となる $\alpha 1/2$ 鎖 4 型コラーゲンの産生亢進を直接制御する因子は全く不明であった。近年、申請者は Smad1 が転写因子として終末糖化産物刺激下での 4 型コラーゲン産生亢進を直接制御することを明らかにした。本研究においては糖尿病性腎症のモデル動物を用いて、実際の生体内での Smad1 の役割を検討した。この結果、Smad1 は、糖尿病の糸球体中でのみメサンギウム領域に発現が亢進しており、糸球体中の Smad1 発現量は、メサンギウム基質拡大の程度や 4 型コラーゲンの発現量、さらには糸球体メサンギウム細胞の形質変換の指標である平滑筋 α アクチンの発現量と相関していた。さらに、培養メサンギウム細胞に Smad1 を過剰発現させると 4 型コラーゲンのみならず、平滑筋 α アクチンの発現も亢進することを示した。以上より、Smad1 は生体内においても糖尿病性腎症の成因と深く関連していることを証明した。

以上の研究は、糖尿病性腎症の成因の鍵となる分子機構を生体で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多い。

したがって、本研究は博士（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5月1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。