

氏 名	ご とう やす ふみ 後 藤 康 文
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1537 号
学位授与の日付	平 成 18 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	農 学 研 究 科 応 用 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	Studies on the Molecular Pathogenesis Mechanism for Renal Fibrosis in Hereditary Nephrotic Mouse (遺伝性腎疾患マウスにおける腎線維症発症機構に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 久 米 新 一 教 授 矢 野 秀 雄 教 授 今 井 裕

論 文 内 容 の 要 旨

近年、牛海綿状脳症や鳥インフルエンザをはじめとする人畜共通感染症の発生に伴い、食の安全性への社会的関心が非常に高まっている。このような状況下において、畜産学では効率的な家畜生産技術の開発とともに、健康で安全性の高い家畜生産に関する研究が重要になっている。腎線維症は家畜を含む多くの哺乳動物において、生活習慣病、感染症、遺伝子疾患などの種々の要因によって発症する病態であるが、腎移植以外の有効な治療法が確立されていないため、哺乳動物の健康と生命を脅かす重大な疾患となっている。また、腎移植以外の有効な治療法が確立されていない要因としては、病態発症メカニズムに関する基礎的知見が十分に蓄積されていないことがあげられる。

そこで、本論文では腎線維症の有用なモデルである遺伝性腎疾患マウス(ICGN)を用いて、腎線維症発症に関わるメカニズムの解明を目的とした。特に、腎線維症では正常な細胞が線維を盛んに合成する異常な細胞(筋線維芽細胞様細胞: α smooth muscle actin (α SMA)陽性細胞)に分化することが発症原因と考えられているため、その細胞分化に重要な役割をしているtransforming growth factor (TGF)- β 1や線維の主成分であるコラーゲン分子の架橋形成酵素(リジルオキシダーゼ: LOX)に着目した。

第1章では、腎線維症病態における筋線維芽細胞様細胞の分化に、TGF- β 1シグナルがどのようなメカニズムで関与しているかを検討した。ICGNマウスの腎組織では、尿細管間質に存在する多くの細胞が筋線維芽細胞様細胞に分化していることを α SMAに対する免疫染色で明らかにした。そこで、これらの筋線維芽細胞様細胞を単離培養し、ICRマウスの正常尿細管間質細胞と表現形を比較した。その結果、TGF- β 1シグナル伝達に関与する全ての因子のなかで、細胞内シグナル伝達因子であるSmad4タンパク質の発現がICGNマウスでは異常に高まっていたため、増幅されたTGF- β 1シグナルが筋線維芽細胞様細胞への分化を誘発することが示唆された。

第2章では、第1章で示された筋線維芽細胞様細胞への分化に関するメカニズムを明確にするために、ICRマウスの腎から単離した正常尿細管間質細胞にSmad4タンパク質を過剰発現させた。その結果、Smad4タンパク質を過剰発現させた尿細管間質細胞では、TGF- β 1シグナルの増幅が筋線維芽細胞様細胞への細胞分化を誘発することを証明した。

第3章では、筋線維芽細胞様細胞が産生する線維の成熟過程に焦点を絞り、線維の主成分であるI型およびIII型コラーゲン分子の架橋形成酵素(LOX)が腎線維症発症に果たす役割を精査した。その結果、線維症の腎では尿細管上皮の細胞によりLOXは過剰に産生され、その産生はTGF- β 1刺激によって誘導されていることを明らかにした。また、過剰産生されたLOXは間質で産生されたコラーゲン分子に過剰な架橋形成を行い、正常な代謝分解をうけにくいコラーゲンマトリックスを形成していることが推察された。

第4章では、腎線維症の発症メカニズムの解明のために、これまで全く未知であったICGNマウスの腎疾患原因遺伝子の同定を試みた。Rapid amplification polymorphic DNA法を用いたICRマウスとICGNマウスのゲノム比較により、ICGNマウスではIntegrin α Xの5'上流域に2カ所の欠損領域が存在することを明らかにした。また、ルシフェラーゼア

ッセイを用いた解析により、その欠損領域には Integrin α X 遺伝子の発現を抑制するサイレンサー配列が含まれ、その配列の欠損によって ICGN マウスの腎では Integrin α X の異常発現が起きていることを明らかにした。

以上のように、本論文では線維産生を促進する Smad4 を介した筋線維芽細胞様細胞への細胞分化メカニズムと、線維分解を阻害する LOX を介したコラーゲンマトリックスの不溶化メカニズムを解明し、腎線維症発症に関わる2つの重要な新規メカニズムを明らかにした。さらに、腎線維症の発症原因となる疾患遺伝子の候補 (Integrin α X) を同定した。

論文審査の結果の要旨

腎臓は種々の要因によって障害を受けやすい臓器であり、動物は健康が障害されると腎機能の低下しやすいことが知られている。腎線維症は家畜を含む多くの哺乳動物において健康と生命を脅かす重大な疾患であるが、健康で安全性の高い家畜生産のためには腎機能を正常に保つことが重要である。本論文は、腎線維症の有用なモデルである遺伝性腎疾患マウス (ICGN) を用いて、腎移植以外の有効な治療法が確立されていない腎線維症の発症メカニズムの解明に取り組んだものであり、評価すべき点は以下のとおりである。

1. 腎線維症では、正常な細胞が線維を盛んに合成する筋線維芽細胞様細胞に分化することが発症原因と考えられているが、ICGN マウスの腎組織では尿細管間質に存在する多くの細胞が筋線維芽細胞様細胞に分化していることを免疫染色で確認した。また、TGF- β 1 シグナル伝達に関与する因子のなかでは、細胞内シグナル伝達因子である Smad4 タンパク質の異常増加が筋線維芽細胞様細胞への分化を誘発することを明らかにした。

2. 筋線維芽細胞様細胞が産生する線維の成熟過程では、線維の主成分である I 型および III 型コラーゲン分子の架橋形成酵素 (LOX) が尿細管上皮細胞で過剰に産生され、またその産生は TGF- β 1 刺激によって誘導されていることを明らかにした。さらに、過剰産生された LOX は正常な代謝分解を受けにくいコラーゲンマトリックスを形成していることを示した。

3. ICGN マウスでは Integrin α X の 5' 上流域に2カ所の欠損領域の存在することが判明し、その欠損領域には Integrin α X 遺伝子の発現を抑制するサイレンサー配列が含まれていたため、今まで未解明であった腎不全原因遺伝子の候補と考えられた。また、Integrin α X の異常発現を介した腎不全発症メカニズムを提唱した。

以上のように、本論文は哺乳動物の腎線維症発症に関わる重要なメカニズムを解明し、腎線維症の予防や治療と関連する多くの新知見を示したものであり、畜産学、実験動物学、動物生体機構学、動物生理学の発展に寄与するところが大い。

よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成18年1月19日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士 (農学) の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。