

氏 名	澤 井 一 智
学位の種類	博士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2731 号
学位授与の日付	平成 16 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	Angiogenic Protein Cyr61 is Expressed by Podocytes in Anti-Thy-1 Glomerulonephritis (Thy-1 腎炎の糸球体足細胞における血管新生蛋白 Cyr61 の発現)
論文調査委員	(主 査) 教授 真 鍋 俊 明 教授 北 徹 教授 中 尾 一 和

論 文 内 容 の 要 旨

腎疾患の治療における最大の問題点は糸球体傷害の不可逆性である。しかし、なぜヒトの糸球体傷害が不可逆的であるのかについては全く説明されていない。一方、ラット Thy-1 腎炎は、抗メサンギウム抗体 (抗 Thy-1 抗体) 投与による糸球体メサンギウム細胞の融解を伴う糸球体構造の破壊の後、約 1 ヶ月の経過でほぼ完全に修復される「可逆的腎炎モデル」であるが、その修復メカニズムおよびヒト腎疾患との関連については未だ不明な点が多い。Thy-1 腎炎の特徴の一つに、糸球体足細胞 (podocyte) が経過中ほとんど障害されないことが知られており、糸球体修復への関与の可能性が示唆される。本研究は、糸球体修復のメカニズムを解明することを目的として、ラット Thy-1 腎炎糸球体における修復過程で発現亢進する遺伝子の同定ならびに、糸球体修復の際に発現亢進する因子の糸球体構成細胞への作用について検討した。

培養 podocyte と whole kidney との suppressive subtractive hybridization 法を用いて 1500 個のクローンのスクリーニングを行い、podocyte に特異性が高く、Thy-1 腎炎で発現亢進する遺伝子として 40 個の遺伝子を単離・同定した。その中に、糸球体での発現が全く知られていなかった、強力な血管新生因子である cysteine-rich protein 61 (Cyr61, CCN1) を同定した。Cyr61 は CCN protein family (CTGF, Nov, WISP-1, 2, 3 など) に属し、胎児の血管形成において必須であることが知られているが、腎臓における発現・意義は全く不明である。まず、Cyr61 の正常腎臓ならびに Thy-1 腎炎での発現を解明するために *in situ* hybridization, 免疫組織化学を用い、Cyr61 が Thy-1 腎炎の podocyte に特異的に発現亢進することを示した。更に、培養 podocyte を用いて、Thy-1 腎炎糸球体で同時期に発現亢進する platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB) や transforming growth factor- β 1 により Cyr61 の発現が誘導されることを示した。次に、Cyr61 の腎臓糸球体における機能を解明する目的で培養メサンギウム細胞に対する機能の検討を行った。その結果、Cyr61 を過剰に発現した COS-7 細胞の培養上清は、メサンギウム細胞の増殖には影響を与えずに、メサンギウム細胞の PDGF-BB による遊走に対して抑制的に働くことを見出した。Cyr61 は、糸球体修復の際にメサンギウム細胞の流入・増殖が盛んな時期に発現亢進すること、また強力な血管新生作用を有することより、糸球体毛細血管維持に関与する可能性が示唆された。

本研究により、Thy-1 腎炎糸球体修復過程において、podocyte から初めてのメサンギウム細胞の遊走抑制因子が同定された。さらに、podocyte の糸球体構造維持における新しい機能が示されたとともに、Cyr61 が糸球体傷害に対する新たな治療薬剤となりうる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

腎疾患の治療における最大の問題点は、傷害腎の不可逆性である。一方、ラット Thy-1 腎炎は、1 ヶ月の経過で糸球体傷害がほぼ完全に修復される可逆的腎炎モデルであるが、その機序は不明な点が多い。そこで、糸球体修復の機序を解明する目的として、Thy-1 腎炎修復過程で発現亢進する遺伝子の同定を行い、その因子の作用について検討を行った。

Thy-1 腎炎では、糸球体足細胞が経過中ほとんど傷害されないという特徴がある。そこでサブトラクション法を用いて、

全腎組織と比較し培養足細胞に特異性が高く、かつThy-1腎炎で発現亢進する遺伝子の単離・同定を行った。その中に強力な血管新生因子 cysteine-rich protein 61 (Cyr61, CCN1) を認めた。発現の解析では、Cyr61はThy-1腎炎初期において足細胞特異的に亢進を認め、また種々の増殖因子により発現が誘導されることを示した。さらにCyr61はメサングウム細胞細胞の遊走に抑制的に作用することを明らかにした。これらの結果より、従来おもに糸球体構造維持に重要と考えられていた足細胞が、液性因子を介して糸球体機能維持・修復に積極的に関与しうる新たな機能が示されたとともに、Cyr61が糸球体傷害に対する新たな治療薬剤となりうる可能性が示唆された。

以上の研究は、腎疾患修復過程の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16年2月12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。