

氏名(生年月日)	スズキ ヒトエ 鈴木 一 恵
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第2293号
学位授与の日付	平成16年12月17日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	Role of mitogen-activated protein kinase in the regulation of transforming growth factor-β-induced fibronectin accumulation in cultured renal interstitial fibroblast (NRK細胞におけるTGF-β依存性フィブロネクチン産生に対するMAPKの役割に関する研究)
主論文公表誌	Clinical and Experimental Nephrology 第8巻 第3号 188-195頁 2004年
論文審査委員	(主査) 教授 二瓶 宏 (副査) 教授 江崎 太一, 山口 直人

論文内容の要旨

〔目的〕

腎間質の線維化は腎機能障害を規定する重要な因子で、transforming growth factor- β (TGF- β)や高血糖は、細胞外マトリックス (ECM) 代謝に影響し線維化を促進する因子として知られている。

今回我々は、腎正常間質細胞 (NRK細胞) を用い、TGF- β 刺激および高糖条件下で、ECMの1つである fibronectin (FN) 産生における細胞内シグナル伝達の検討を行った。

〔方法〕

NRK培養液は10%FCS加RPMI-1640を用い、いずれの実験も刺激前12時間は無血清とした。p38 MAPK阻害薬 SB203580 (10 μ M), ERK阻害薬 PD98059 (30 μ M) は、TGF- β (1ng/ml) 刺激の2時間前に添加した。培養液中の糖濃度は高糖 30mM D-glucose, 正常糖 5.5mM D-glucose とし24時間培養を行った。

Western blot に用いた1次抗体は抗ラット FN 抗体, 抗活性型 ERK1/ERK2 抗体, 抗活性型 p38 MAPK 抗体, 抗活性型 JNK 抗体で、HRP 標識二次抗体と反応後に発色した。mRNA の発現はラット FN primer を用いた定量的 RT-PCR 法により測定した。

〔結果〕

TGF- β 刺激および高糖環境下では FN 産生は mRNA, 蛋白とも増加し、いずれも p38 阻害薬で完全抑制されたが、ERK 阻害薬は高糖下では完全抑制、TGF- β 刺激では部分抑制だった。FN 産生に関しては Smad 経路、JNK 経路は関与しなかった。高糖+TGF- β 刺激では p38 MAPK 活性のみ亢進が増強し、ERK1/ERK2 では正常糖+TGF- β 刺激と著変なかった。

〔考察〕

NRK細胞における FN 産生は糖濃度および TGF- β に依存性で、p38 MAPK と ERK1/ERK2 の両経路の活性、特に p38 経路の関与が大きいと考えられ、JNK および Smad 経路への関与は少ないと考えられた。さらに高糖環境+TGF- β 刺激では FN 産生に対して相乗効果を認め、やはり p38 MAPK 経路の関与が示唆された。

〔結論〕

NRK細胞において、高糖環境下、TGF- β 刺激下、高糖環境+TGF- β 刺激による FN 産生には、細胞内シグナル伝達系の MAPK 経路のうち p38 経路が重要であることが確認された。

論文審査の要旨

腎間質の線維化は腎機能障害の重要な因子である。腎正常間質細胞 (NRK 細胞) を用いて、細胞外マトリックス (ECM) の一つである fibronectin (FN) の細胞内シグナル伝達に対する transforming growth factor- β (TGF- β) と高糖濃度の影響について検討した。

TGF- β 刺激および高糖下では FN 産生は mRNA, 蛋白とも増加し, p38 阻害薬で完全に抑制された。ERK 阻害薬では高糖下で完全に抑制され, TGF- β 刺激で部分的に抑制された。FN 産生に関しては Smad 経路と JNK 経路の関与は少なかった。高糖 + TGF- β 刺激では p38MAPK 活性のみが増強し, ERK1/ERK2 では正常糖 + TGF- β 刺激と著変なかった。

NRK 細胞においては, 高糖濃度, TGF- β , 高糖濃度 + TGF- β 刺激による FN 産生に, 細胞内シグナル伝達系の MAPK 経路のうち p38 経路が重要であることが示された。腎のみならず組織の線維化に係わる ECM 産生の機序の一部を明らかにした学問的に価値ある論文である。