

氏名(生年月日)	代田 さつき
本籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第 2297 号
学位授与の日付	平成 17 年 1 月 21 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	左右軸決定遺伝子 <i>inv</i> (inversion of embryonic turning) の機能解析
主論文公表誌	日本腎臓学会誌 第 46 巻 第 7 号 676-684 頁 2004 年
論文審査委員	(主査) 教授 二瓶 宏 (副査) 教授 江崎 太一, 三橋 紀夫

論文内容の要旨

〔目的〕

左右軸決定遺伝子 *inv* (inversion of embryonic turning) は腎嚢胞の形成と体軸の決定に関与する遺伝子として報告されたが, その細胞生物学的役割については不明な点が多い. 今回我々は, 酸化ストレスによる腎組織および細胞障害での *inv* の発現, その意義を検討した.

〔方法〕

12 週齢雄の Wistar ラットを用いて腎虚血再灌流 (IRI) モデルを作製し, 血清クレアチニン (Cr) および腎臓での *inv* mRNA の発現を測定した. さらに発現を確認してあるマウス腎集合管上皮培養細胞 (mIMCD-3) を用い, 培養液に H₂O₂ を添加し *inv* mRNA の発現を測定した. また *inv* を標的とした small interference RNA (siRNA) を遺伝子導入し, 形態を観察し, 関連が推測される遺伝子 profile をスクリーニングした. mRNA の発現は real-time PCR 法により測定した.

〔結果〕

ラット IRI モデルでは Cr は IRI 後 24 時間で最も上昇し, 次第に改善したが, *inv* mRNA の発現は 6 時間後に最も減弱し, IRI 後 240 時間で過剰発現した. mIMCD-3 細胞でも *inv* mRNA の発現は, H₂O₂ 負荷後 3 時間で低下し, 24 時間で発現が増強した.

inv siRNA 導入細胞では細胞-細胞間の接合が消失し, 細胞数が減少した. *inv* mRNA は 50% 以下に抑制され, Mmp 8, tenascin R, selectin E および Bmp5 の各 mRNA は発現の亢進が, talin, β -catenine, cadherin, type IV collagen および actinin は低下した.

〔考察〕

虚血, 酸化ストレスにより *in vivo*, *in vitro* においても *inv* の発現は初期に低下し, 次第に過剰発現がもたらされ, 傷害された腎の修復過程において何らかの役割を果たしている可能性が推測された. この機序に関して, 細胞形態や発現遺伝子 profile の変化から細胞増殖や細胞骨格形成にかかわる可能性が示唆された.

〔結論〕

体軸決定, 腎の形態形成に関わる *inv* 遺伝子の機能につき検討し, 細胞増殖や細胞骨格形成に関与する遺伝子群の発現への関与が示唆された.

論文審査の要旨

左右軸決定遺伝子 *inv* (inversion of embryonic turning) は腎嚢胞の形成と体軸の決定遺伝子として報告されたが、細胞生物学的役割については不明の点が多い。今回、酸化ストレスによる腎組織および細胞障害での *inv* の発現と意義を検討した。

Wistar ラットで作製した腎虚血再灌流 (IRI) モデルとマウス腎集合管上皮細胞 (mIMCD-3) を用いて *inv* の発現を観測し、同時に *inv* を標的とした small interference RNA (siRNA) を遺伝子導入し、細胞形態の観測と関連遺伝子の profile をスクリーニングした。

IRI モデルでは *inv* の発現は 6 時間後に最も減弱し、240 時間後に約 2 倍の過剰発現が見られた。mIMCD-3 細胞でも H₂O₂ 負荷後 3 時間で *inv* の発現が低下し、24 時間で約 3 倍に増強した。*inv* siRNA 導入細胞では *inv* mRNA が 50% 以下に抑制され、細胞数が減少し細胞間接合が消失した。

細胞形態や発現遺伝子 profile の変化から、*inv* は傷害された腎の修復過程で役割を担っていると考えられた。*inv* が細胞増殖や細胞骨格の形成に係わる可能性を示した学問的に価値ある論文である。