慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	ラット腎発生分化におけるMAPキナーゼファミリーの役割
Sub Title	
Author	飛弾, 麻里子(Hida, Mariko)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.1 (2003. 3) ,p.9-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030303-0009

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

ラット腎発生分化におけるMAPキナーゼファミリーの役割

飛彈　麻里子

内容の要旨

【背景】腎ネフロンは、間葉細胞と尿管芽上皮細胞の増殖分化によって形成される。これらの発生過程は相互に影響し合いながら進行する。すなわち、一方が分泌する細胞外因子が他方の増殖、分化の制御に必須と考えられている。また腎の形態形成には広汎なアポトーシスも関与している。Mitogen-activated protein kinase（MAPK）スーパーファミリーは細胞内信号伝達における主要酵素であり、主に以下の3つのファミリーが知られている。Extracellular signal-regulated protein kinase（ERK）は細胞増殖、分化誘導に、p38 MAPK（p38）とc-Jun N-terminal kinaseは細胞増殖、アポトーシスに関与する。従って、MAPKが腎発生において重要な役割を果たしていると推測される。筆者らは幼若ラット腎ではERKとp38の発現・活性が高いこと、ERKの発現パターンとネフロンの発生過程が良く相関することを報告している。本研究では、ラット後腎を器官培養しERK活性化酵素阻害薬、p38阻害薬の存在下で器官培養し、腎発生におけるp38、ERKの機能的意義について検討した。

【方法】胎齢15日ラット後腎を24時間培養したのち、p38またはERK活性化酵素の阻害薬を添加してさらに96時間培養、対照腎（阻害薬なし）と以下の項目について比較検討した：間葉細胞の増殖（後腎表面積、トリチウム標識チミジンの取り込みなど）、間葉細胞の糸球体上皮への分化（Wilms' tumor1免疫組織染色）、尿管芽上皮細胞の増殖、分化（Dolichos biflorus lectin染色）、アポトーシス（核断片化など）、糸球体原基の数（peanut agglutinin染色）および微細構造の成熟度（HE染色）。

【結果】p38阻害により、主に間葉細胞の増殖が抑制され、アポトーシスが増加した。さらに、間葉細胞の糸球体上皮への分化は抑制され、糸球体原基は認められなかった。ERK阻害でも、間葉細胞の増殖抑制、アポトーシスの増加、糸球体原基数の減少を認めた。これらの効果はp38阻害腎に比して軽度であった。間葉細胞の糸球体上皮への分化については対照腎と有意差を認めなかったが、微細構造が未熟な糸球体原基が多く、糸球体成熟過程の遅延が示唆された。尿管芽細胞の増殖、分化については、p38阻害、ERK阻害により、いずれも有意な変化を認めなかった。

【結論】p38が主に間葉細胞の増殖促進、分化誘導、アポトーシスの抑制を介して腎の成長と糸球体形成に関与することが確認された。一方、ERK阻害の影響はp38阻害に比して軽度であった。ERKはむしろ糸球体微細構造の成熟過程において重要な役割を果たしていることが示唆された。

論文審査の要旨

腎発生は、後腎間葉細胞と尿管芽上皮の発生が並行して、互いに影響しあいながら進行する。本研究では、間葉細胞と尿管芽上皮から分泌され、互いの発生に関わる細胞外因子のシグナル伝達機構について検討した。ラット後腎を器官培養し、シグナル伝達の主要酵素であるMAPキナーゼ（MAPK）の阻害剤（p38阻害剤およびERK活性化酵素であるMEKの阻害剤）を培養液中に添加することにより、1）p38は主に間葉細胞の増殖促進、分化誘導、アポトーシスの抑制を介して腎の成長と糸球体形成に関与すること、2）ERKは糸球体微細構造の成熟過程において重要な役割を果たしていることが示された。

審査では、MAPK阻害剤の濃度設定の根拠、特異性、非特異的細胞毒性について問われた。実験を低濃度から開始し、p38阻害剤では腎表面積に、MEK阻害剤では尿管芽内径に有意な変化を認めた最低濃度を採用したと回答された。また薬剤の細胞毒性については組織像から判断し、特異性については今後の課題であると回答された。それに対し、構造の類似した不活性薬剤による組織損傷の検討、培養細胞での特異性の検討、他臓器の組織培養で使用される濃度との比較検討などが有用である、とのコメントがなされた。実験開始日を胎齢15日に設定した理由が問われ、技術的に可能な最も早い胎齢と選んだと回答された。尿管芽分枝がMAPK阻害による影響を受けなかった理由が問われ、胎齢15日では既に分枝が進行しており、影響を受けにくいと判断したと回答された。やはりMAPKの一つであるJNKについて検討しなかった理由が問われ、JNKの発現はむしろ成熟腎で強いためと回答された。p38阻害剤を短期間使用した場合の効果を「可逆的」と表現した点について説明が求められ、アポトーシスを起こさなかった残存間葉細胞による腎組織形成を「可逆的」とした、との回答がなされた。MAPKを介して腎発生に影響を及ぼす具体的な細胞外因子について問われた。繊維芽細胞成長因子、肝細胞成長因子により培養細胞のMAPKが活性化され、MAPK阻害剤によりこれら成長因子による細胞遊走促進作用が阻害される、との回答がなされた。本研究をさらに発展させてゆくための実験計画について問われ、MAPKの過剰発現実験を行う予定との回答がなされた。今回の研究結果と腎疾患の関連について問われた。p38阻害による腎成長障害と矮小腎、p38阻害によるネフロン形成異常とoligomega-nephronia、ERK阻害による尿管芽内腔の異常と嚢胞性腎疾患の関連が想定されるとの回答がなされた。

以上のように、本研究は今後検討されるべき課題はあるものの腎の発生、成長とネフロン形成におけるMAPKの機能的役割を明らかにした点で有意義な研究と評価された。

論文審査担当者　主査　小児科学　高橋　孝雄
泌尿器科学　村井　勝　内科学　猿田　享男
解剖学　相磯　貞和　病理学　岡田　保典
学力確認担当者：北島　政樹、村井　勝
審査委員長：村井　勝

試問日：平成14年10月3日