

Title	Glucocorticoid regulation of proteoglycan synthesis in mesangial cells .
Sub Title	糖質コルチコイドによるメサングウム細胞のプロテオグリカン産生の調節
Author	中村, 真理
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.4 (2004. 12) ,p.31-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0031

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.

Glucocorticoid regulation of proteoglycan synthesis in mesangial cells.

(糖質コルチコイドによるメサンギウム細胞のプロテオグリカン産生の調節)

中 村 真 理

内容の要旨

腎糸球体にはパイグリカン、デコリンなど様々なプロテオグリカンが発現しており、増殖因子の機能調節等多様な機能を担っている可能性が示唆されている。現在腎炎の治療にステロイド(糖質コルチコイド)薬が広く用いられており、糸球体障害改善に有効であることが示されている。本研究では糖質コルチコイドの一つであるデキサメサゾンが各種のプロテオグリカン産生に与える影響とその機序について検討した。

【対象と方法】

ラットおよびヒトメサンギウム細胞をデキサメサゾンで刺激したのち、プロテオグリカン産生をCPC沈殿法で定量した。産生されたプロテオグリカンの生化学的特性は、DEAE-Sephacelによるイオン交換クロマトグラフィーとSephrose-CL2Bによる分子篩クロマトグラフィーで検討した。プロテオグリカンコア蛋白のmRNA発現は、ノーザンブロット法とRT-PCR法、蛋白発現はウェスタンブロット法で測定した。また、パイグリカン遺伝子プロモーターをメサンギウム細胞に遺伝子導入し、デキサメサゾン刺激した後、dual luciferase assayにてプロモーター活性を定量した。in vivoの実験では10週齢の雄SDラットにデキサメサゾン(5mg/kg/day)を3日間腹腔内投与した。投与後糸球体を単離し、パイグリカンとデコリンのmRNA発現をRT-PCR法により測定した。

【結果と考察】

メサンギウム細胞をデキサメサゾンで刺激した結果、時間および用量依存性にプロテオグリカン産生が低下し($p < 0.01$)、その作用は糖質コルチコイド受容体拮抗薬であるミフェプリストンにより阻害された。プロテオグリカンコア蛋白発現の検討では、デキサメサゾン投与後にデコリン発現が低下したが、パイグリカンに関してはmRNA・蛋白発現の増加ならびにパイグリカン遺伝子のプロモータ活性の有意な増加を認めた。プロモーター活性の増加が認められた場所はグルココルチコイド応答領域(GRE: glucocorticoid response element)を含んでおり、デキサメサゾンはGREを介してパイグリカン遺伝子の転写調節を行っている可能性が示唆された。in vivoにおいてもデキサメサゾン投与により糸球体のパイグリカンmRNAの増加を認めた。以上より、デキサメサゾンがプロテオグリカン遺伝子発現をサブタイプ特異的に調節していることが明らかとなった。これらの変化がステロイド薬の糸球体障害抑制効果に影響している可能性が示唆された。

論文審査の要旨

腎糸球体の細胞外マトリックスの構成成分の1つとして、パイグリカン、デコリンなど種々のプロテオグリカンが発現している。これらのプロテオグリカンは、transforming growth factor (TGF) β などの増殖因子の機能調節など多彩な機能を有している。本研究は、腎メサンギウム細胞における各種プロテオグリカン産生への糖質コルチコイドの影響を、ラットおよびヒトで、in vitroおよびin vivoの両実験で検討した。糖質コルチコイドとしてその作用が強力で、飲質コルチコイド作用のないデキサメタゾン(DX)を用いた。

まず培養メサンギウム細胞での実験で、DXはラットでもヒトでもプロテオグリカン産生を抑制し、その作用が糖質コルチコイド受容体拮抗薬で抑制されることを明らかにした。プロテオグリカンのコア蛋白発現の検討では、DX投与後にデコリン発現は低下し、パイグリカンに関してはmRNA・蛋白の増加およびパイグリカン遺伝子のプロモータ活性の有意な増加を認めた。ラットを用いたin vivoの研究でも、DXの投与は糸球体のパイグリカンmRNAを増加させた。

以上の成績から、DXはプロテオグリカン遺伝子発現をサブタイプ特異的に調節し、その変化がステロイド薬の糸球体障害抑制効果に影響していると考えた。

以上の研究に関して、なぜDXを用いたのか、またその投与量が多過ぎることが問題となった。本研究では諸糖質コルチコイドのプロテオグリカン産生抑制効果の検討の結果、DXの作用が強力で安定していることからDXを使用し、しかも確実な効果を得るために、通常ヒトに投与される量よりもやや多い量を用いたとされた。次にプロテオグリカンのコア蛋白発現の検討で、デコリンが低下し、一方パイグリカンが増加した意義が目玉された。デコリンの発現低下はDXによる総プロテオグリカン産生抑制と関係しており、一方パイグリカンの増加は、パイグリカンがTGF β と結合し、抗TGF β 作用により腎障害の予防に貢献しているのではないかと考えた。

ヒトとラットのメサンギウム細胞を使って実験がなされたが、できればヒトに限って実験した方がよかったとされた。しかし、ヒトの細胞は入手し難いことと、結果にばらつきが出るために、ラットのメサンギウム細胞を主として用いて実験したとされた。In vivoの実験は正常ラットを用いて行われたが、腎炎モデルで検討されるべきであったと助言された。さらにこの研究とこれまでの腎疾患のステロイド治療との関連において、ステロイド反応性腎症と非反応性腎症の原因をプロテオグリカンの変化と関係づけられるかが問題となった。プロテオグリカンのサブタイプの変化が関連している可能性があるが、今後の検討課題とされた。

以上のように、本研究は糖質ステロイドの腎作用とプロテオグリカンとの関係を明らかにし、腎疾患に対する糖質コルチコイドの作用機序の解明の点で、有用な研究と評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 猿田 享男
泌尿器科学 村井 勝 病理学 岡田 保典
医化学 末松 誠
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16年 8月24日