

Title	Hepatocyte growth factor regulates proteoglycan synthesis in interstitial fibroblasts.
Sub Title	腎間質線維芽細胞における肝細胞増殖因子によるプロテオグリカン発現調節機構の検討
Author	小林, 絵美
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.1 (2005. 3) ,p.12-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050302-0012

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.

Hepatocyte growth factor regulates proteoglycan synthesis in interstitial fibroblasts.

(腎間質線維芽細胞における肝細胞増殖因子によるプロテオグリカン発現調節機構の検討)

小林 絵美

内容の要旨

【目的】肝細胞増殖因子(HGF)は腎臓の間質において抗線維化作用を有し、線維化に対する治療薬としての応用が期待されている。一方、細胞外マトリックスの主要な構成成分であるプロテオグリカンはコア蛋白にグリコサミノグリカン側鎖が共有結合した構造をしており、サイトカインや増殖因子の機能調節などに関与していることが知られている。特にプロテオグリカンのひとつであるデコリンは抗TGF- β 1作用をもつことが知られており、HGF同様に腎線維化抑制に対しての有用性が指摘されているが、今までHGFとプロテオグリカンの関係は明らかにされていない。そこで本研究では、HGFが腎間質線維芽細胞においてプロテオグリカン発現に与える影響とその機序の検討を行った。

【方法】ラット腎間質線維芽細胞(NRK-49F)およびヒト初代線維芽細胞(NHF)を実験に用いた。HGFの特異的受容体であるcMetのmRNA発現およびそのリン酸化、細胞内情報伝達経路をRT-PCR、免疫ブロット解析により検討した。次にHGFによるプロテオグリカン産生量の変動を塩化セチルピリニジウム沈殿法および陰イオンクロマトグラフィー法により、サブタイプ別に検討した。一部のプロテオグリカンはその発現量の変動をコア蛋白レベルでも評価した。次にHGFによるバイグリカン転写レベルでの調節をプロモーター解析により測定した。またバイグリカンが細胞増殖に与える作用を ^3H チミジンの取り込みにより検討した。

【結果と考察】NRKおよびNHFでc-Met mRNAの発現、HGF投与後のc-Metのリン酸化を確認した。HGF投与後、ERK1/2およびp38MAPKの著明なリン酸化亢進を認めたがJNKには明らかな変動は見られず、HGFの細胞内情報伝達経路はERK1/2、p38MAPKの両者を介している可能性が示唆された。次にHGF投与がプロテオグリカン合成に与える影響を検討した結果、時間・濃度依存性に増加することが示され、そのサブタイプ別検討では、陰イオン交換クロマトグラフィー法でHGF刺激後にピークIIの増加を認め、コア蛋白別の検討でもそのピークに相当するデコリン、バイグリカンの有意な増加を認めた。プロモーター解析ではヒトバイグリカンプロモーターの-1212から-686の部位にHGFに対しての応答部位がある可能性が示された。また、TGF- β 1によるNRKでの ^3H チミジン取り込みの増加がバイグリカン投与により濃度依存性に抑制され、バイグリカンは抗TGF- β 1作用を有することが示唆された。以上より、腎臓におけるHGFの抗線維化作用の機序の一つとして、HGFが抗TGF- β 1因子として働くプロテオグリカンの発現をプロモーターレベルで調節している可能性が示唆された。このことは、慢性腎不全などにおける腎間質障害の治療法を考える上で参考となる可能性が考えられた。

論文審査の要旨

諸種腎疾患の増悪さらに腎不全の発症には、腎間質の線維化が重要な役割を果たしており、近年その抑制法に関して多くの研究がなされている。最近になってhepatocyte growth factor (HGF)が腎において抗線維化作用を呈することが明らかにされ、また細胞外マトリックスの主要構成成分であるプロテオグリカン(PG)のサブタイプの1つであるデコリン(DCN)が、抗transforming growth factor (TGF)- β 作用を有し、HGFと同様に抗線維化作用を有することが明らかにされてきた。そこで本研究では、HGFのPG産生への影響、さらに腎間質の線維化抑制効果について検討した。

実験は腎間質線維芽細胞(NRK)とヒト初代線維芽細胞の2種を用いて行われた。まずこれらの両細胞において、HGFの特異的受容体であるcMetの発現と、HGF投与後cMetのリン酸化が生じ、細胞内情報伝達系としてERK1/2、p38MAPKの両者を介している可能性を示唆した。HGFの投与はPG合成を刺激し、PGのタイプ別の検討で、DCNとベーチカン(BGN)が有意に増加することを明らかにした。またTGF- β によるNRKにおける ^3H -チミジン取り込み増加が、BGNで有意に抑制されることを明らかにし、BGNが抗TGF- β 作用を有することを示唆した。

以上のような一連の研究に対して、まずHGFの腎線維芽細胞への作用が特異的であるのか、それともHGFの肝細胞への作用と同様な作用であるのかを議論された。HGFによる腎における線維化抑制作用はTGF- β を介するものであり、その抑制には本研究で示されたようにDCNやBGNを介するTGF- β 抑制作用と、HGFによる直接作用とがあるが、HGFの直接作用の方がつよく、肝細胞への作用と類似するものであるとされた。腎間質におけるBGNの増加によってTGF- β による線維化促進が抑制されることを明らかにした点が、本研究の新知見であり、その裏付けがさらになされたかが問われた。それに関して本研究者は、尿管細管の結紮による腎間質線維化モデルにおいて、BGNのトランスジェニックマウスでは腎間質の線維化抑制が生じることを明らかにしたとされた。

諸種腎疾患モデルでの腎線維化促進においてPGの関与に差がみられることが指摘されたが、本研究は腎間質の線維芽細胞を用いた研究であり、糸球体の線維化への関与と異なる可能性があると考えられた。今後本研究の成果を踏まえて、HGFを腎の線維化阻止治療に応用していくにあたり、問題となる点も議論がなされた。まずHGFの投与方法であり、腎への作用を強めるには、遺伝子治療が必要であること、その投与量も問題であり、投与量が多くなると腎毒性が生じる可能性があること、またHGFの作用を持続させていく必要があることなどが付言され、今後の検討課題とされた。

以上のように本研究は腎間質線維芽細胞を用いたin vitroでの研究であったが、HGFがBGNを介してTGF- β の作用を抑制して腎間質の線維化阻止に作用することを明らかにし、今後の腎疾患の治療を考える上で、価値ある論文と評価された。

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

内科学 日比 紀文

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10月30日