

Title	ERK and p38 mediate high-glucose-induced hypertrophy and TGF- β expression in renal tubular cells
Sub Title	高糖環境下尿細管細胞肥大、TGF- β 発現におけるERKおよびp38の役割
Author	藤田, 尚代
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.43-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0043

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.

ERK and p38 mediate high-glucose-induced hypertrophy and TGF- β expression in renal tubular cells

(高糖環境下尿細管細胞肥大、TGF- β 発現におけるERKおよびp38の役割)

藤田 尚代

内容の要旨

糖尿病性腎症は初期に腎腫大が認められる。一方、糖尿病性腎症ではTGF- β 発現が亢進している。TGF- β は糸球体肥大、尿細管肥大を誘導すると共に糸球体硬化、尿細管間質線維化を媒介する。糖尿病ラット腎糸球体、高糖環境下培養メサンギウム細胞において、ERK、p38の発現・活性が亢進し、TGF- β 発現を媒介することが報告されている。本研究では尿細管に着目し、高糖環境下尿細管細胞肥大、TGF- β 発現におけるERKおよびp38の役割を検討した。

Sprague-Dawleyラットにストレプトゾトシンを投与、糖尿病を惹起した。一部の糖尿病ラットにインスリン投与を行った。3週後に腎を摘出、免疫組織染色を行った。近位尿細管細胞LLC-PK₁を高糖濃度（グルコース25mM）、正常糖濃度（5.5mM）下で培養後、蛋白発現をウェスタンブロットで解析した。細胞肥大を、細胞あたりの蛋白量、³H-ロイシン取り込み、DNAあたりの蛋白量により評価した。

糖尿病ラットの血糖値、腎重量体重比は対照ラットに比し高値を示したが、インスリン投与により抑制された。ERKは遠位尿細管、集合管で発現し、対照腎と糖尿病腎で差を認めなかった。活性型ERK（P-ERK）は遠位尿細管にも認められたが主に集合管に局在し、糖尿病腎で発現が増加した。p38、活性型p38（P-p38）は対照腎には認められなかったが、糖尿病腎の全ての尿細管に発現が認められた。JNK、活性型JNK（P-JNK）は対照腎と糖尿病腎で差がなく、JNKは遠位尿細管、集合管、一部近位尿細管、P-JNKは遠位尿細管、集合管で発現した。TGF- β は対照腎には認められなかったが、糖尿病腎の全ての尿細管に発現が認められた。インスリン投与によりP-ERK、p38、P-p38、TGF- β 発現は対照腎と同レベルに抑制された。

高糖環境下でLLC-PK₁細胞を培養したところ、P-ERK、P-p38の発現が培養24から72時間にかけて増加した。高糖と等浸透圧のマニトール下培養ではこれらの変化は認められず、P-ERK、P-p38の発現増加が、高浸透圧ではなく高糖環境に特異的なものであることが示された。高糖環境下培養では、細胞あたりの蛋白量、³H-ロイシン取り込みが増加したが、p38阻害剤SB203580（SB）、ERK活性化酵素MEK阻害剤PD98059（PD）により対照と同レベルに抑制された。DNAあたりの蛋白量も高糖環境下培養で増加し、SB、PDにより部分的に抑制され、両者併用により更に対照と同レベルに抑制された。高糖環境下培養によりTGF- β 発現は増加し、SB、PD、または両者併用により対照と同レベルに抑制された。

糖尿病性腎症では尿細管においてERK、p38の活性化が起こり、TGF- β 発現が誘導され、腎尿細管細胞肥大が生じる可能性が示された。

論文審査の要旨

糖尿病性腎症の初期には腎腫大が認められる。一方、糖尿病性腎症ではTGF- β 発現が亢進している。TGF- β は糸球体肥大、尿細管肥大を誘導すると共に糸球体硬化、尿細管間質線維化を媒介する。本研究では、尿細管に着目し、高糖環境下での尿細管細胞肥大、TGF- β 発現におけるERKおよびp38の役割について検討した。ラットでは、ERKは遠位尿細管、集合管で発現し、対照腎と糖尿病腎で差を認めなかった。活性型ERK（P-ERK）は遠位尿細管にも認められたが、主に集合管に局在し、糖尿病腎で発現が増加した。p38、活性型p38（P-p38）、TGF- β は対照腎では認められず、糖尿病腎で全ての尿細管に発現が認められた。LLC-PK₁細胞では、高糖環境下培養でP-ERK、P-p38の発現が増加した。高糖環境による細胞肥大（DNAあたりの蛋白量）は、ERK阻害、p38阻害により相対的に抑制された。高糖環境によるTGF- β 発現誘導は、ERK阻害、p38阻害により対照と同レベルまで抑制された。糖尿病性腎症尿細管においてERK、p38の活性化が起こり、TGF- β 発現が誘導され、腎尿細管細胞肥大が生じる可能性が示された。

審査ではまず、糖尿病惹起後わずか3週で評価を行った根拠について質問され、組織学的には近位尿細管肥大を確認していないが、糖尿病惹起後10日で近位尿細管細胞に肥大が生じるとの報告に基づいたと回答された。糖尿病性腎症における尿細管肥大の臨床的意義について質問され、過去に報告はなく、本研究でも回答は得られなかった、と回答された。今後検討すべき重要な課題であると助言された。糖尿病腎近位尿細管細胞ではP-ERKが発現していなかったにもかかわらず、*in vitro*実験で近位尿細管細胞（LLC-PK₁）を用いた根拠について質問され、近位尿細管は腎容積のうち大きな割合を占め腎肥大における関与が大きいこと、高糖環境下培養では遠位尿細管の細胞肥大は認められないとの報告があること、免疫組織染色で検出されない程度のP-ERK発現の可能性があると、などが根拠であると回答された。高糖環境におけるERK/p38活性化の機序について質問され、メサンギウム細胞に関する実験データから推測すると、protein kinase Cや活性酸素の関与が考えられると回答された。それらの可能性について、さらに解析を進めるように助言がなされた。また、培養液中のTGF- β 濃度を測定し、同等濃度のTGF- β をLLC-PK₁細胞に曝露させた場合の影響、抗TGF- β 抗体の効果などについて今後も検討を進めるようにとの助言がなされた。

以上、本研究はさらなる検討が必要な点もあるが、糖尿病ラットを用いた*in vivo*実験とLLC-PK₁細胞を用いた*in vitro*実験により、高糖環境によるERK、p38の活性化を示したこと、近位尿細管細胞肥大の機序の一部を明らかにした点で、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 小児科学 高橋 孝雄
内科学 伊藤 裕 産婦人科学 吉村 泰典
泌尿器科学 村井 勝
学力確認担当者：池田 康夫
審査委員長：伊藤 裕

試問日：平成19年1月18日