

とみ た まさ ゆき

氏名	富田 雅之
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大博(医)第1663号
学位授与の日付	平成16年12月28日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
博士論文名	Decreased collagen-degrading activity could be a marker of prolonged mesangial matrix expansion. (コラーゲン分解活性の低下はメサンギウム領域拡大遷延化の指標として有用である)
論文審査委員	主査 教授 追手 巍 副査 教授 清水 不二雄 副査 教授 山本 格

#### 博士論文の要旨

背景) 慢性糸球体腎炎の大半を占める IgA 腎症などのメサンギウム増殖性腎炎では、しばしばメサンギウム領域の拡大が遷延化し、糸球体硬化を経て最終的には末期腎不全に至る。メサンギウム領域の拡大は、主に細胞外基質の過剰産生やその代謝分解活性の低下によりもたらされるが、メサンギウム領域拡大の遷延化におけるこれらの役割については不明な点が多い。そこで本研究では、メサンギウム領域拡大の遷延化における、細胞外基質分解酵素として知られる matrix metalloproteinase (MMP) 及びその内因性阻害タンパク質である tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) から成る細胞外基質分解系の役割を明らかにすることを目的として、新潟大学腎研分子病態学分野にて開発された可逆性及び遷延性のメサンギウム領域拡大モデルを用いて比較検討した。

方法) 可逆性のメサンギウム領域拡大モデルは、抗 Thy-1.1 単クローン抗体 1-22-3 をラットに 1 回静注することにより、遷延化モデルは、同抗体を 2 回静注することによりそれぞれ作製した。糸球体における細胞外基質の産生については、I 型及び IV 型コラーゲンの mRNA 発現量を、分解系については、MMP-2 及び -9 (共に IV 型コラーゲンなどを分解)、-13 (I 型コラーゲンなどを分解)、膜型 (MT) 1-MMP (MMP-2 の内因性活性化酵素) 及び TIMP-1 の発現量を解析し、両モデルで比較した。加えて、尿中の I 型コラーゲン分解活性の測定を行い、両モデルで比較した。

結果及び考察) 可逆性モデルでは、抗体投与後 2 週目の時点において I 型及び IV 型コラーゲンの増加に伴うメサンギウム領域の拡大が認められたが、8 週目までに徐々に退縮した。一方、遷延化モデルでは、2 回目の抗体投与後 8 週目の時点においても、著明なメサンギウム領域の拡大が観察された。抗体の最終投与後 8 週目における I 型及び IV 型コラーゲンの mRNA 発現量について解析した結果、両モデルの間に差は認められなかった。これらのことから、メサンギウム領域拡大の遷延化には、コラーゲンの過剰産生よりもむしろ、コラーゲン分解活性の低下が関与する可能性が示唆された。次に、分解系について解析した。その結果、MMP-9 の mRNA 発現

量は、抗体の最終投与後 2 週目の時点より、可逆性モデルに比べて遷延化モデルにおいて少なかった。免疫染色による検討の結果、MMP-9 のタンパク質発現レベルについても同様の結果が得られた。一方で、TIMP-1 の mRNA 発現量については、両モデルの間に差は認められなかった。これらのことから、遷延化モデルでは可逆性モデルに比べて、糸球体における MMP-9 活性が相対的に低下していることが推察された。MMP-2、-13 及び MT1-MMP の mRNA 発現量については、両モデルの間に差は認められなかった。また、抗体の最終投与後 8 週目における尿中の I 型コラーゲン分解活性について検討した結果、遷延化モデルでは可逆性モデルに比べて有意に低かった。加えて、本活性とメサンギウム領域拡大の程度との間には、有意な相関関係が認められた。尿中 I 型コラーゲン分解活性の活性本体は不明であるが、MMP-9 は I 型コラーゲンの分解に関与していることが示唆されていることから、MMP-9 がその候補のひとつであると考えられた。

結論) 以上の結果から、メサンギウム領域拡大の遷延化には、糸球体における MMP-9 の相対的な活性低下が関与することが示唆された。また、尿中 I 型コラーゲン分解活性の測定は、メサンギウム増殖性糸球体腎炎の診断において、有用な情報を提供するものと考えられた。

#### 審査結果の要旨

慢性糸球体腎炎の代表的存在である IgA 腎症を始めとするメサンギウム増殖性腎炎ではメサンギウム領域の拡大が進行し、糸球体硬化を経て最終的には末期腎不全状態に至ることが稀ではない。メサンギウム領域の拡大は、主に細胞外基質の過剰産生やその代謝分解活性の低下によりもたらされるがメサンギウム領域拡大の持続、進展におけるこれらの役割については不明な点が多い。そこで本研究では、メサンギウム領域拡大の遷延化における、細胞外基質の産生系と分解系との役割を明らかにすることを目的として、本学腎研分子病態学分野にて開発された可逆性及び不可逆性のメサンギウム増殖性腎炎モデルにおけるこれら諸因子の動態を比較検討した。

(方法) 可逆性のメサンギウム増殖性腎炎モデルは、抗 Thy-1.1 単クローン抗体 1-22-3 をラットに 1 回、また不可逆性モデルは、同抗体を 2 回静注することによりそれぞれ作製した。糸球体での細胞外基質の産生については、I 型及び IV 型コラーゲンの mRNA 発現量を、分解系については、分解酵素として知られる matrix metalloproteinase (MMP) -2 及び -9 (共に IV 型コラーゲンなどを分解)、-13 (I 型コラーゲンなどを分解)、膜型 (MT) 1-MMP (MMP-2 の内因性活性化酵素) 及び MMP の内因性阻害因子である tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) -1 の発現量を各々検索し、尿中の I 型コラーゲン分解活性も含めて、両モデルで比較した。

(結果及び考察) 可逆性モデルでは、抗体投与後 2 週目の時点において I 型及び IV 型コラーゲンの増加に伴うメサンギウム領域の拡大が認められたが、8 週目までに徐々に正常化した。一方不可逆性モデルでは、2 回目の抗

体投与後 8 週目においても、著明なメサンギウム領域の拡大が観察された。抗体の最終投与後 8 週目における I 型及び IV 型コラーゲンの mRNA 発現量には両モデル間で著差は認められなかった。これらのことから、メサンギウム領域拡大の遷延化には、コラーゲンの過剰産生よりもむしろ、コラーゲン分解活性の低下が関与する可能性が示唆された。次に、分解系について解析した結果、MMP-9 の mRNA 発現量は、抗体の最終投与後 2 週目の時点より、可逆性モデルに比べて不可逆性モデルにおいて減少していた。免疫染色による MMP-9 のタンパク質発現レベルについても同様の結果が得られた。一方で、TIMP-1 の mRNA 発現量については、両モデルの間に著差は認められなかった。これらのことから、不可逆性モデルでは可逆性モデルに比べて、糸球体における MMP-9 活性が相対的に低下していることが推察された。MMP-2、-13 及び MT1-MMP の mRNA 発現量については両モデルの間に著差は認められなかった。また、抗体の最終投与後、8 週目における尿中の I 型コラーゲン分解活性は不可逆性モデルでは可逆性モデルに比べて有意に低下していた。加えて、本活性とメサンギウム領域拡大の程度との間には、有意な相関関係が認められた。尿中 I 型コラーゲン分解活性の活性本体は不明であるが、MMP-9 は I 型コラーゲンの分解に関与していることが示唆されていることから、MMP-9 がその候補のひとつであると考えられた。

(結論)メサンギウム領域拡大の遷延化には、糸球体における MMP-9 の相対的な活性低下が関与することが示唆された。また、尿中 I 型コラーゲン分解活性の測定は、メサンギウム増殖性糸球体腎炎の診断において、有用な情報を提供するものと考えられた。

以上、メサンギウム領域拡大の遷延化機序並びにその診断に資する有益な示唆を与えた点に本論文の価値を認める。