

氏 名	カーン ファヒマ
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第158号
学位授与の日付	平成19年 3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	Alterations of Cell Adhesion Molecules in human Glomerular Endothelial Cells in Response to Nephritis-Associated Plasminogen Receptor (腎炎関連プラスノーゲン受容体との反応後におけるヒト腎糸球体血管内皮細胞・細胞接着分子の変化)
論文審査委員	主査 教授 山 本 格 副査 教授 追 手 巍 副査 教授 下 條 文 武

博士論文の要旨

はじめに:

血管内皮細胞は炎症過程、特に細胞表面に存在する接着分子を介する炎症細胞の組織への浸潤機構において、大きな役割を演じている。ヒト急性溶血連鎖球菌感染後腎炎では、瀰漫性管内性増殖性糸球体腎炎の形態を取り、著しい炎症性細胞の浸潤を伴う。発症機序としては、特有のタイプの溶血性連鎖球菌(溶連菌)が腎炎惹起性を持ち、菌体成分を抗原として、それに対して産生された抗体との間で免疫複合体が形成され、沈着して増殖性腎炎を引き起こしてくると考えられている。しかし、溶連菌成分が直接血管内皮細胞に作用して炎症細胞浸潤機構の引き金と成り得るかについて、分子レベルでの検討は現在まで成されていない。そこで著者らは最近同定された溶連菌成分、nephritis-associated plasminogen receptor (NAPlr)をヒト腎糸球体内皮細胞と反応させ、同細胞の炎症細胞動員に關与する細胞接着分子発現、サイトカイン産生について検索した。

方法:

共著者、山上らが作製した NAPlr は培養腎炎惹起性溶連菌をホモゲナイザーで処理し、遠心後の上清成分、ruptured streptococcal cell supernatant (RCS)から急性溶連菌感染後腎炎患者血清免疫グロブリンを結合したアフィニティークロマトグラフィーで精製した。ヒト腎糸球体内皮細胞の培養は既報 (Oite T et.al Microvasc Res 50:113, 1995)に従い、細胞接着分子、monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)の発現は蛍光抗体法(IF)、及び細胞 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)で検索した。接着分子、Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1, CD31)の発現は western blot 法でも検索した。内皮細胞培養上清中の tumor necrosis factor- α (TNF- α)活性は市販の ELISA キットを用いて測定した。用いた抗体は anti-intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1, CD54)抗体、 anti-PECAM-1 抗体、anti- MCP-1 抗体でマウス単クローン抗体である。

結果：

1. 細胞 ELISA を用いての検索から、RCS 及び NAPIr との反応によりヒト腎糸球体内皮細胞における PECAM-1 の発現は濃度依存性に減少していた。2. この結果は蛍光抗体法による PECAM-1 染色でも確認された。3. 同じ条件下でも ICAM-1 の蛋白発現には変化を認めなかった。4. 大腸菌 lipopolysaccharide、TNF- α に対するヒト腎糸球体内皮細胞の PECAM-1、ICAM-1 の発現は典型的な濃度依存性反応パターンを示した。5. RCS 及び NAPIr との反応によりヒト腎糸球体内皮細胞の MCP-1 産生は濃度依存性に増加した。6. 1、2、5の反応は plasminogen を添加培養すると有意に抑制された。6. RCS で刺激されたヒト腎糸球体内皮細胞の培養上清中には、微量ながら濃度依存性に TNF- α が検出された。

結論及び考察：

腎炎惹起性溶連菌・菌体成分 RCS から精製された NAPIr はプラスノーゲン受容体とアミノ酸組成上高いホモロジーを持つ。RCS 及び NAPIr は培養ヒト腎糸球体内皮細胞に作用し、同細胞表面上に存在する PECAM-1、同細胞が産生する MCP-1 の発現を有意に変化させた。この内皮細胞の反応様式は、培養系にプラスミノーゲンを共存させると阻害されることから、NAPIr はアミノ酸との類似性だけでなく、機能的にもプラスノーゲン受容体として作用することを示している。このことから、NAPIr はヒト急性溶血連鎖球菌感染後腎炎の発症に関与する免疫複合体を形成する抗原としての役割だけでなく、腎糸球体内皮細胞に直接作用し、糸球体における炎症性細胞の浸潤、蛋白透過性亢進を引き起こしうる事が示唆され、急性溶血連鎖球菌感染後腎炎における付加的な糸球体腎炎発症機序の存在が明らかとなった。この作用機序は同じ菌体成分である大腸菌 lipopolysaccharide、及び代表的なサイトカイン TNF- α との反応において ICAM-1 の発現に差異を認めたことから、NAPIr のヒト腎糸球体内皮細胞の接着分子発現機構が特異的である可能性が強い。今後、NAPIr により誘導される腎糸球体内皮細胞反応の分子機構をより詳細に分析することにより、糸球体限局性炎症の発症機構の解明、更には腎炎惹起分子作用阻害による腎炎発症阻止を目指した治療法の進展に繋がる事を期待したい。

(論文審査の要旨)

本研究はヒト急性溶連菌感染後糸球体腎炎の発症において糸球体に沈着している免疫複合体の抗原として働いている溶血性連鎖球菌の菌体内成分、ruptured streptococcal cell supernatants (RCS)、更に精製された nephritis-associated plasminogen receptor (NAPIr)の糸球体内皮細胞への直接作用を検討したものである。培養ヒト糸球体内皮細胞を RCS あるいは NAPIr で刺激すると、細胞接着分子、platelet endothelial cell adhesion molecule (PECAM)-1 の発現が有意に抑制され、サイトカイン、monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 の産生が有意に増加し、この系に plasminogen を添加するとこれらの変化は抑制された。これらの結果は急性溶連菌感染後糸球体腎炎の発症において NAPIr は抗原として免疫複合体を形成し、糸球体に沈着するだけでなく、その受容体機能を介して糸球体内皮細胞を直接刺激し、糸球体腎炎の誘導に関与していることを示唆した。以上、腎炎惹起菌体成分を免疫複合体形成性抗原としてだけではなく、血管内皮細胞に直接作用し内皮細胞機能を賦活化する機能蛋白としてとらえ、新しい腎炎発症機序を提示した点に、博士論文としての価値を認める。