

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 鈴木 和彦

腎間質線維化は各種腎疾患に付随して認められ、その程度が腎機能低下の程度と密接に関連しているため、腎間質線維化の発現及び進展の機序を解明することは医学・獣医学上きわめて重要である。しかし、腎間質線維化には多くの因子が関与していることが示唆されている一方で、そうした因子が実際にどのように線維化に関わっているかについては未だ不明な点が多い。こうした点を明らかにするには、より多くの病態モデルを用いた研究を行ない、それらから得られた知見を比較・検討してゆく必要がある。本研究では、新たに開発した病態モデル、すなわち、Brown Norway ラットへの1ないし3回の塩化水銀投与により誘発した尿細管壊死後性腎間質線維化病変の発現と進展の機序について、病理組織学的、免疫組織化学的および分子生物学的研究を行なった。得られた結果は以下の通りである。

①病理組織学的検索では、皮髄境界部の近位尿細管を中心に尿細管上皮細胞の壊死とそれに続く再生が認められ、次いで該部の尿細管周囲性に筋線維芽細胞およびマクロファージの浸潤が認められた。これらの浸潤細胞数の推移は互いによく相関し、さらに、これら細胞の増数に伴い、間質線維化が増強した。

②炎症細胞浸潤に必要な走化因子であるケモカインとそのレセプターの発現と局在を分子生物学的ならびに免疫組織化学的に検索した。その結果、ケモカインでは MCP-1、RANTES および IP-10 が、レセプターでは上記ケモカインに特異的な CCR-1、CCR-2、CCR-5 および CXCR-3 の発現の上昇が見られた。

③線維化促進サイトカインである transforming growth factor (TGF)- β 1 の mRNA レベルでの発現と局在を分子生物学的に、活性型 TGF- β 1 蛋白の局在と細胞外基質(ECM)の動態を免疫組織化学的に検索した。その結果、TGF- β 1 mRNA の発現は早期にピークに達した後、一時的に軽度に減少し、再度増加する傾向を示した。TGF- β 1 mRNA のシグナルは早期には再生尿細管上皮細胞にみられ、病変の進展に伴い、浸潤マクロファージにも認められるようになった。TGF- β 1 蛋白の局在は mRNA の局在とほぼ同様であった。一方、ECM は、管腔拡張を呈する再生尿細管周囲で経時的に蓄積がみられ、中でも Fibronectin

の蓄積は最も早くから発現し、かつ、最も顕著であった。

④ECM の分解において中心的な役割を担っている matrix metalloproteinases (MMPs) とそれらの制御因子の動態について、分子生物学的手法を用いて検索した。その結果、collagen 分解能をもつ MMP-1 mRNA の発現の低下がみられ、一方で MMPs の抑制因子である tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMPs)のうち TIMP-1 mRNA の発現が有意に上昇した。また、MMPs を前駆蛋白から活性型に変換する際に必要な plasmin-dependent pathway では、抑制因子である plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 mRNA の発現上昇がみられた。さらに、発現上昇を認めた上記2因子 (TIMP-1、PAI-1) について、その局在を *in situ* hybridization 法により検索したところ、ともに再生尿細管上皮細胞でシグナルが認められた。

以上の結果から、MCP-1、RANTES などにより炎症局所へ浸潤したマクロファージおよび筋線維芽細胞ならびに TGF- β 1 が、fibronectin および type I collagen などの ECM の産生促進する一方で、PAI-1 および TIMP-1 による MMP 活性の抑制によって ECM の分解が抑制されることによって、間質線維化が発現し、進展してゆくことが明らかになった。また、TGF- β 1、PAI-1 および TIMP-1 の産生・分泌に再生尿細管上皮細胞が深く関与していることが示された。

本研究の成果は腎間質線維化の発現機構を明らかにし、治療法を開発する上で極めて重要である。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位を授与するに値するものと認めた。