

# 河津 多代 論文内容の要旨

## 主 論 文

### Production and degradation of extracellular matrix in reversible glomerular lesions in rat model of habu snake venom-induced glomerulonephritis

(ラットハブ毒誘発糸球体腎炎モデルにおける、可逆性糸球体病変の  
細胞外基質の産生と分解についての検討)

Tayo Kawazu, MD., Tomoya Nishino, MD., PhD., Yoko Obata, MD., PhD.,  
Akira Furusu, MD., PhD., Masanobu Miyazaki, MD., PhD.,  
Katsushige Abe, MD., PhD., Takehiko Koji, PhD.,  
Shigeru Kohno, MD., PhD.

Medical Molecular Morphology [in press]

長崎大学大学院医学研究科新興感染症病態制御学系専攻  
(主任指導教員：河野 茂教授)

## 緒 言

メサンギウム増殖性糸球体腎炎は、組織学的にメサンギウム細胞の増殖と基質の増生によって特徴づけられ、非可逆的な変化を呈した場合には糸球体硬化をきたし、予後不良な経過をたどる。細胞外基質産生系の因子である Heat shock protein 47 (HSP47) は、コラーゲン産生に必須の分子シャペロンであり、その発現は糸球体疾患におけるコラーゲン発現と正の相関を示すことが報告されている。一方、細胞外基質分解系の因子である Matrix metalloproteinase (MMP)-3 は、II 型及び IV 型コラーゲンの分解に関与し、糸球体疾患においてコラーゲン沈着部位に一致して発現するとされている。さらに、MMP-3 発現の転写調節因子である Ets-1 は、ラット半月体形成性糸球体腎炎モデルにおいて MMP-3 の発現と関連しているとの報告がある。しかしこれまでに、糸球体疾患の進展あるいは治癒過程において、細胞外基質の産生および分解系因子の関連を検討した報告はなく、明らかとなっていない。

今回我々は、可逆性に細胞外基質の変化をきたすハブ毒(HSV) 誘発メサンギウム増殖性糸球体腎炎モデルを用いて、細胞外基質産生系因子である TGF- $\beta$  と HSP47、分解系因子である Ets-1 と MMP-3 の経時的発現変化を免疫組織化学で比較検討した。

## 対象と方法

雄の Sprague-Dawley ラット(体重 200g) に HSV 3mg/kg を静脈内投与し、可逆性糸球体腎炎を惹起した(HSV 群)。また、HSV の代わりに生理食塩水を静脈内投与した群をコントロールとした。ラットは HSV または生理食塩水投与前並びに投与後 7、14、21、28、35、49、63 日目に屠殺し、腎臓を採取した。パラフィン包埋切片または凍結切片を用いて以下の検討を行った。糸球体の形態的变化を periodic acid-Schiff (PAS) 染

色で、細胞外基質の変化に関しては、免疫組織化学的手法を用いて IV 型コラーゲンの発現で評価した。また、細胞外基質産生系因子として HSP47 と TGF- $\beta$  を、分解系因子として MMP-3 と Ets-1 の発現を免疫組織化学で検討した。各糸球体における PAS 陽性領域、IV 型コラーゲン、HSP47、MMP-3 陽性領域は画像解析装置で半定量化した。また、TGF- $\beta$  と Ets-1 の発現は、顕微鏡倍率 400 倍下でランダムに各群 20 個の糸球体を選択した後に 1 糸球体あたりの陽性細胞率を算出した。各結果については、2 群間及び経時変化を統計学的に比較検討した。

## 結 果

コントロール群の糸球体では、メサンギウム細胞の増殖や基質の増生といった形態的变化は一連の経過中に認めなかった。HSV 群では、HSV 投与後 21 日目をピークに PAS 陽性領域の増加を認めた。その後 PAS 陽性領域は、35 日目において 21 日目と比較して有意に減少し、63 日目には HSV 投与前と有意差のない程度まで減少した。また、IV 型コラーゲン陽性領域の経時的変化は、PAS 陽性領域の変化と同様の経過であった。HSV 群の糸球体における HSP47 陽性領域ならびに TGF- $\beta$  陽性細胞率は、HSV 投与後 14 日目から増加し 21 日目にピークに達した後、次第に減少傾向を呈し、63 日目には投与前と同程度となった。一方、MMP-3 陽性領域と Ets-1 陽性細胞率は、メサンギウム基質の増生がピークを示した 21 日目から増加し始め、35 日目にピークとなり、以後減少傾向は呈したものの 63 日目まで HSV 投与前よりも有意差をもって増加した状態が持続した。

## 考 察

本研究により、HSV 誘発可逆性メサンギウム増殖性糸球体腎炎モデルにおけるメサンギウム基質の変化は、細胞外基質産生および分解系因子の経時的発現変化とそのバランスに起因する可能性が示唆された。

本モデルが可逆性変化をたどる機序として、腎炎発症早期から細胞外基質産生系因子である TGF- $\beta$  と HSP47 の発現が増強することにより基質が増生し、その後、転写調節因子である Ets-1 を介した MMP-3 の発現誘導とその持続が基質の分解をもたらすことが一因と考えられた。

今後、メサンギウム増殖性糸球体腎炎における細胞外基質増生の抑制や糸球体硬化予防へ向けた新たな治療戦略として、細胞外基質産生系因子の抑制のみならず、分解系因子の発現誘導がターゲットとなる可能性が示唆された。