

Title	Crucial Role of Mesangial Cell-derived Connective Tissue Growth Factor in a Mouse Model of Anti-Glomerular Basement Membrane Glomerulonephritis(Abstract_要旨)
Author(s)	Toda, Naohiro
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2018-03-26
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k21013
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（医学）	氏名	戸田尚宏
論文題目	Crucial Role of Mesangial Cell-derived Connective Tissue Growth Factor in a Mouse Model of Anti-Glomerular Basement Membrane Glomerulonephritis (マウス抗糸球体基底膜抗体腎炎におけるメサンギウム細胞由来結合組織成長因子の重要な役割に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>Connective tissue growth factor (CTGF:結合組織成長因子)は 38kDa の細胞外基質蛋白質で、4つのドメインで構成される。CTGFは特定の受容体を持たず、各ドメインがインテグリン、TGF-β1 など蛋白質や増殖因子と結合し、各種病態において細胞外基質産生や細胞増殖・遊走・接着など多様な役割を持つ。CTGFは腎炎ではその発現が糸球体で亢進することが知られている。CTGFの機能解析に有用なCTGFノックアウトマウスは生後直ぐに死亡するため、成獣でのCTGF抑制の腎障害における意義は十分に検討されていなかった。</p> <p>CTGFコード領域全てを loxP 配列で挟んだ CTGF floxed マウスを作製し、RosaCreER^{T2}マウスを交配し、タモキシフェン投与下でCTGF抑制が可能な薬剤誘導性全身性CTGFノックアウトマウス(Rosa-CTGF cKO)を作製した。コントロールマウスと Rosa-CTGF cKO に抗糸球体基底膜抗体腎炎 (GBM 腎炎) を惹起したところ、Rosa-CTGF cKO 糸球体の CTGF mRNA 発現は 80%減少し、蛋白尿は約 50%減少した。更には半月体形成が軽減し、糸球体で線維化マーカーの発現も低下していた。次に、Nephrin-Cre マウスと CTGF floxed マウスを交配し、ポドサイト特異的 CTGF ノックアウトマウス (pod-CTGF cKO) を作製し検討した。GBM 腎炎を惹起した pod-CTGF cKO では蛋白尿や半月体形成などの腎障害が改善しなかった。そこで、腎炎において主にメサンギウム細胞に発現が増加する PDGFRα に着目し、PDGFRα-Cre マウスと CTGF floxed マウスを交配し、メサンギウム細胞 CTGF ノックアウトマウス (PDGFRα-CTGF cKO) を作成し、GBM 腎炎を惹起したところ、Rosa-CTGF cKO と同様に蛋白尿や半月体形成の軽減を認めた。以上のことから、メサンギウム細胞由来の CTGF が GBM 腎炎の病態進展に重要であることが示唆された。次に、CTGF と炎症の関連に着目し、MAC-2 染色を用いて糸球体へのマクロファージ集簇の検討を行った。pod-CTGF cKO ではコントロールマウスと変化を認めなかったが、Rosa-CTGF cKO や PDGFRα-CTGF cKO では MAC-2 陽性細胞の糸球体への集簇が有意に軽減し、GBM 腎炎で増加していた炎症マーカー <i>Adgre1</i> と <i>Ccl2</i> の発現低下に加え、マクロファージの M1/M2 比の低下を認めた。次に、培養マウスメサンギウム細胞 (Mes13) を用いてメサンギウム細胞の CTGF が炎症に与える影響を検討した。Mes13 に CTGF 刺激を行うと <i>Ccl2</i> 発現が亢進し、CTGF siRNA で抑制すると TGF-β1 刺激に伴う <i>Ccl2</i> 発現が軽減された。また、TNF-α 刺激で増加するメサンギウム細胞とマクロファージの接着が CTGF を抑制すると軽減された。</p> <p>本研究では CTGF floxed マウスを作製し、解析困難であった成獣における CTGF の腎障害における意義を解析した。GBM 腎炎において CTGF を抑制すると腎炎が軽減されること、ポドサイトでなくメサンギウム細胞由来の CTGF が GBM 腎炎において重要であること、メサンギウム細胞由来の CTGF がマクロファージの遊走や接着に重要であることを解明した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

Connective tissue growth factor (CTGF:結合組織成長因子)は細胞外基質蛋白質で、線維化や炎症を促進する。CTGFの糸球体腎炎における意義を明らかにするため、コンディショナルCTGFノックアウトマウスを作製し、各種Creマウスと交配し、全身性薬剤誘導性CTGFノックアウトマウス(Rosa-CTGF cKO)・ポドサイト特異的CTGFノックアウトマウス(pod-CTGF cKO)・メサンギウム細胞CTGFノックアウトマウス(PDGFR α -CTGF cKO)を作製した。これらのマウスに抗糸球体基底膜(GBM)抗体腎炎を惹起すると、pod-CTGF cKOでは軽快しなかったが、Rosa-CTGF cKOとPDGFR α -CTGF cKOで尿蛋白と半月体形成、糸球体マクロファージ浸潤と炎症性サイトカイン発現が軽減した。マウスメサンギウム細胞におけるCTGF発現抑制により、TGF-β1刺激に伴う炎症性サイトカイン発現とTNF- α 刺激に伴うマクロファージの接着が抑制された。

以上の結果から、抗GBM抗体腎炎の病態にCTGFが関与すること、更にメサンギウム細胞由来のCTGFが進展に寄与することが明らかとなった。

以上の研究は糸球体腎炎の進展におけるCTGF関与の機序解明に貢献し、腎臓病学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成30年3月5日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

