

論 文 内 容 要 旨

題目 Differential regulation of angiotensin II-induced extracellular signal regulated kinase-1/2 and -5 in progressive glomerulonephritis

(進行性腎炎におけるアンジオテンシン II により活性化された細胞外シグナル調節キナーゼ-1/2 および 5 の特異的制御機構)

著者 TAKASHI NAGAI, MAKI URUSHIHARA, YUKIKO KINOSHITA, ARIUNBOLD JAMBA, SHUJI KONDO and SHOJI KAGAMI
平成 28 年発行 Nephrology に掲載予定

内容要旨

細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK) 1/2 および ERK5 は、生体内において細胞増殖、分化、誘導など多彩な細胞動態に関与する細胞内シグナル伝達経路である mitogen activated protein kinase (MAPK) ファミリーに属するキナーゼである。近年、ERK1/2 および ERK5 が腎障害と関連していることを示す報告がなされているが、いまだその詳細な機序は明らかにはなっていない。

申請者らは腎障害の進展に深く関与しているレニン・アンジオテンシン系 (RAS) の活性化と ERK1/2 および ERK5 との関連を検証するため、ラット半月体形成性腎炎モデルと培養メサンギウム細胞 (MC)、ERK 経路阻害剤である PD98059 (MEK1/2 Inhibitor)、BIX02189 (MEK5 Inhibitor) を用いて進行性腎炎の病態進展における ERK1/2 および ERK5 の役割を検討した。

ラットに抗基底膜抗体を投与して腎炎を惹起した半月体形成性腎炎モデルを作成した。また、正常対照群および腎炎惹起後アンジオテンシン II タイプ I 受容体拮抗薬 (ARB) 投与群をそれぞれ作成した。7日目、28日目における組織での半月体形成率およびリン酸化 ERK1/2、リン酸化 ERK5、proliferating cell nuclear antigen (PCNA)、ED-1 陽性マクロファージ (ED-1)、I 型コラーゲンの発現変化を酵素抗体法と免疫蛍光染色にて観察した。さらに培養 MC において PD98059、BIX02189 を ERK1/2、ERK5 がそれぞれ特異的に阻害される濃度で作用させ、アンジオテンシン II 刺激によりリアルタイム PCR による MCP-1 と I 型コラーゲンの発現変化および WST-8 アッセイでの細胞増殖能変化について検討した。

腎炎群では 7 日目に全系球体の 65% に細胞性優位の半月体形成が確認された。28 日目には線維細胞性半月体が増加していた。また ARB 投与群では腎炎群に比し

様式 (8)

て7日目、28日目とも半月体の形成が抑制されていた。リン酸化ERK1/2、ED-1、PCNAの発現はラット半月体形成性腎炎の急性期にあたる7日目に最も増強し、ARB投与によりその発現は抑制されていた。アンジオテンシンIIで刺激した培養MCはMCP-1の発現と細胞増殖能が増加しPD98059およびARBにより抑制されたが、BIX02189では抑制されなかった。リン酸化ERK5とI型コラーゲンの発現は慢性期にあたる28日目に最も増強し、ARB投与によりその発現は抑制されていた。またアンジオテンシン IIで刺激した培養MCはI型コラーゲンの発現が増加しBIX02189およびARBにより抑制されたが、PD98059では抑制されなかった。

以上の結果から、半月体形成性腎炎においてRASの活性化によりリン酸化されたERK1/2が急性期の細胞増殖やマクロファージの糸球体への浸潤に関与していることが示唆され、またERK5はコラーゲンの産生および蓄積、線維化への進展を中心とする慢性期の病変形成の制御に関与することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1279号	氏名	永井 隆
審査委員	主査 土井 俊夫 副査 玉置 俊晃 副査 常山 幸一		

題目 Differential regulation of angiotensin II-induced extracellular signal regulated kinase-1/2 and -5 in progressive glomerulonephritis
(進行性腎炎におけるアンジオテンシン II により活性化された細胞外シグナル調節キナーゼ 1/2 および 5 の特異的制御機構)

著者 TAKASHI NAGAI, MAKI URUSHIHARA, YUKIKO KINOSHITA, ARIUNBOLD JAMBA, SHUJI KONDO and SHOJI KAGAMI

平成 28 年発行 Nephrology に掲載予定
(主任教授 香美 祥二)

要旨 近年、細胞増殖や分化など多彩な細胞動態を制御する細胞内シグナル伝達分子、ERK1/2、ERK5が腎炎進展に関与することが明らかとなってきた。一方、代表的な腎炎進展因子、アンジオテンシンII (Ang II) は種々の細胞のERK1/2、ERK5を活性化することが報告されている。申請者らはラット半月体形成性腎炎モデルと培養メサンギウム細胞(MC)を用いて進行性腎炎の病態進展におけるAng II作用とERK1/2、ERK5の役割を検討した。ラットに抗基底膜抗体を投与して半月体形成性腎炎を惹起した(腎炎群)。また、正常対照群と腎炎惹起後アンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)投与群を作成した。腎炎惹起後7日目、28日目の半月体形成率およびリン酸化ERK1/2、リン酸化ERK5、proliferating cell nuclear antigen(PCNA)、ED-1陽性マクロファージ(ED-1)、I型コラーゲンの発現変化を免疫染色および蛍光染色にて観察した。さらに培養MCにPD98059(MEK1/2阻害剤)あるいはBIX02189(MEK5阻害剤)を添加し、Ang II刺激によるmonocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)とI型コラーゲンの発現変化および細胞増殖能変化を検討した。得られた結果は以下の如くである。

- 1) 腎炎群では発症7日目に細胞性半月体形成が確認され、28日目には線維性半月体へ進展していた。ARB投与群は腎炎群に比し7日目、28日目ともに半月体形成が抑制された。
- 2) リン酸化ERK1/2、ED-1、PCNAの発現は腎炎7日目に、リン酸化ERK5とI型コラーゲンの発現は腎炎28日目に最も増強しており、ARB投与によりそれぞれが抑制された。
- 3) Ang II刺激により培養MCのMCP-1発現、細胞増殖能、I型コラーゲン発現の増加が認められた。MCP-1の発現と細胞増殖能はPD98059およびARBにより抑制されたが、BIX02189では抑制されなかった。またI型コラーゲンの発現はBIX02189およびARBにより抑制されたが、PD98059では抑制されなかった。

以上の結果は、Ang IIにより活性化されたERK1/2が急性炎症期の細胞増殖やマクロファージの糸球体への浸潤に関与し、またERK5がコラーゲン産生や蓄積による慢性病変形成に関与することを示唆するものである。本研究の成果は急速進行性腎炎における病態生理の理解を深めるとともに、腎炎の新しい治療法を検討する上で重要なものであり、学位授与に値すると判定した。