



Title	ラット培養メサンギウム細胞におけるAngiotensin II の増殖効果に関する研究
Author(s)	高間, 俊郎
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35273">https://hdl.handle.net/11094/35273</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	高間俊郎
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7657 号
学位授与の日付	昭和 62 年 3 月 26 日
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	ラット培養メサンギウム細胞における Angiotensin II の増殖効果に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 北村 旦 (副査) 教授 鎌田 武信 教授 松本 圭史

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

糸球体腎炎では多くの場合メサンギウム細胞（以下M細胞と略す）の増殖がみられるが、M細胞増殖の機序は今だ不明な点が多い。このため、最近培養系を用いてM細胞の増殖に影響を与える因子が研究されており、(1)macrophage supernatants, (2)interleukin 1, (3)P D G F (Platelet-derived growth factor) が増殖促進因子であると報告されている。

一方、昇圧物質である angiotensin II (以下 A II と略す) は血管平滑筋細胞の収縮・副腎皮質細胞からの mineral corticoid の産生亢進作用を有するとともにこれら標的細胞の増殖を促進させると報告されている。A II の受容体は M 細胞にも存在しており、A II は M 細胞を収縮させ、これによる糸球体有効濾過面積の減少を介して糸球体濾過値を低下させると考えられている。

本研究では A II がその標的細胞の一つである M 細胞に対し収縮作用のほかに増殖促進作用がないかをラット培養 M 細胞を用いて検討した。

#### 〔方法ならびに成績〕

##### 1. メサンギウム細胞の培養法

4 週齢雄性 Sprague-Dawley rats の腎皮質を細切し、sieving 法によって糸球体を単離し、20% - ウシ胎児血清（以下 F C S と略す）を添加した R P M I 1640 medium 中に培養した。培養 21 日目頃に圧倒的優勢となる細胞は樹枝状突起を有し星形・紡錘形を呈し、厚い stress fiber がみられた。Stress fiber は phalloidin と結合しており、A II ( $1 \times 10^{-9} \sim 10^{-11}$  M) を投与すると細胞収縮がみられることがよりこの細胞は M 細胞由来の細胞と考えられた。以後の実験はこの培養 M 細胞を用いて行った。

## 2. メサンギウム細胞の増殖実験

糸球体培養21日目に継代し、 $35\text{mm} \times \text{mm}$  culture dish に培養M細胞を  $1 \times 10^6$  cells ずつ分注した。Subconfluent state になるまで約14日を要し、その後 F C S を含まない R P M I 1640 medium に置換した。置換5日目に細胞は増殖が静止していることが細胞数・[<sup>3</sup>H] thymidine uptake の測定で判明した。A II を  $1 \times 10^{-5}\text{M}$  ~  $10^{-11}\text{M}$  の濃度で投与し、24時間後に [<sup>3</sup>H] thymidine を添加、さらに24時間後に細胞数・[<sup>3</sup>H] thymidine uptake を測定し増殖効果を判定した。また、(1) A II と同時に insulin 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  と、(2) A II の拮抗薬である saralasin ([Sar<sup>1</sup>, Ala<sup>8</sup>] - A II) を投与した。(3)さらにヒト正常血漿より得た血小板成分の除去された血清 (plasma-derived serum - 以下 P D S と略す) を作製し、10% - P D S 存在下に A II を投与し増殖効果を検討した。

## 3. メサンギウム細胞の増殖効果

- (1) A II による増殖効果 : A II は  $1 \times 10^{-5}\text{M}$  •  $1 \times 10^{-7}\text{M}$  の濃度で insulin 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を同時投与すると、insulin 単独投与群に比し約1.5倍の [<sup>3</sup>H] thymidine uptake の上昇を認めた。しかし、A II 単独では [<sup>3</sup>H] thymidine uptake の有意な上昇はみられなかった。
- (2) A II の増殖効果に対する saralasin の作用 : A II  $1 \times 10^{-7}\text{M}$  の濃度での培養M細胞における増殖作用は Saralasin  $1 \times 10^{-5}\text{M}$  により抑制された。
- (3) 10% - P D S 存在下での A II の増殖効果 : 10% - P D S 存在下でも A II は同濃度 ( $1 \times 10^{-5}\text{M}$  •  $1 \times 10^{-7}\text{M}$ ) で約1.5倍の [<sup>3</sup>H] thymidine uptake の上昇を認めた。

尚、細胞数についてはいずれも変化はみられなかった。

### 〔総括〕

A II は増殖静止期にあるラット培養M細胞の増殖を insulin または P D S との同時投与で相乗的に促進させた。この効果は A II の拮抗薬である saralasin により抑制された。以上より A II はラット培養M細胞の増殖促進因子と考えられた。

## 論文の審査結果の要旨

培養細胞を用いることによりメサンギウム細胞の各種機能が検討されているが、この細胞に対する増殖因子に関する研究は少ない。本論文では培養メサンギウム細胞に対して angiotensin II が収縮作用をもつ他に、増殖促進作用をも有することを報告し、糸球体障害の一因としての angiotensin II の役割を示唆した。このことは糸球体腎炎にみられるメサンギウム細胞増殖の発症・促進の解明に意義深く、今後の糸球体腎炎の研究に多大な貢献をもたらすものと考えられ、本論文は学位に値する研究と判断する。