



Title	ネフローゼ症候群における肝アルブミン、アポリポ蛋白B合成促進機序の解明
Author(s)	山内, 淳
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36575
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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	やま 山	うち 内	あつし 淳
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	8 5 0 6	号
学位授与の日付	平 成 元 年	3 月	10 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当		
学位論文題目	ネフローゼ症候群における肝アルブミン、アポリポ蛋白B 合成促進機序の解明		
論文審査委員	(主査) 教 授 鎌田 武信		
	(副査) 教 授 垂井清一郎 教 授 田中 武彦		

論文内容の要旨

〔目 的〕

ネフローゼ症候群（ネ症）では多量の尿蛋白のため血清アルブミン（Alb）値が低下する。一方、ネ症肝でのAlbをはじめとする分泌蛋白の合成は亢進していることが示され、ネ症に必発する高脂血症の原因はリポ蛋白合成亢進が原因と考えられている。このようなネ症肝における分泌蛋白合成の亢進機序はなお明らかではない。低Alb血症に対するなんらかの代償機転が働くためと考えられているが、その分子メカニズムおよび制御メカニズムは不明である。本研究では、ネ症モデルラットにおける肝AlbおよびLDL、VLDLの主要アポ蛋白であるアポリポ蛋白B（Apo B）合成を分子レベルで検討し、さらに培養細胞を用いて蛋白合成亢進のメカニズムの解明を試みた。

〔方 法〕

(1) ネ症モデルラットの作成および飼育

Sprague-Dawley 系雄性ラット（体重180-190g）に puromycin aminonucleoside 5mg / 100g 体重を2回、2週間間隔で静注してネ症ラットを作成し、同様に生食を静注したコントロール群と比較した。2回目の静注後1週間目に代謝ケージに移し、絶食時の24時間尿蛋白量を測定した。その後、摂餌量をチェックしながら ad lib feeding にてさらに1週間飼育後屠殺した。摂餌量は両群間にほとんど差は見られなかった。

(2) Cell culture およびその調整

Alb分泌能など、分化した肝細胞機能を有する rat hepatoma cell line (H4 II E cell) を用い、mediumはEagle's MEM+10%牛胎児血清を使用した。ほぼconfluentのH4 II E

cell をmedium change するとAlb mRNA, ApoB mRNAは上昇するが, 6 時間後から24時間後まではほぼ一定レベルであった。そこでmedium を種々の濃度 (0, 2, 4, 8 g / dl) の牛血清アルブミン, または高分子デキストラン (分子量 6 - 9 万) を含むものに変え, medium change 後6時間の各mRNA レベルの変化をみた。

(3) 各mRNA レベルの測定

Guanidium-CsCl 法または同-LiCl 法にて肝組織, 培養細胞より総RNAを抽出後, dot blot 法およびNorthern blot 法により各mRNA レベルを測定した。使用したプローブは, Alb cDNA, ApoB cDNA, およびcontrol として細胞骨格蛋白である β -アクトチン (β -Act) のcDNA を³²P でラベルして用いた。

(4) 遺伝子転写速度の測定

肝組織, 培養細胞より核を抽出し, nuclear run on 法 (Lamers et al. 1982) により遺伝子転写速度を測定した。

[成 績]

(1) ネ症モデルラット

- ① ネ症ラットのAlb mRNAレベルはコントロールに比し約1.8倍に上昇, ApoB mRNA レベルも高値を示した。 β -Act mRNA レベルにはほとんど変化なく, Alb mRNA / β -Act mRNA 比とApoB mRNA / β -Act mRNA 比は両者とも有意に上昇した。
- ② Northern blot 法により成熟したAlb mRNA および precursor と考えられる RNA の両者の増加が認められた。
- ③ Alb 遺伝子転写速度はネ症群で約2倍に上昇し, Alb mRNA / β -Act mRNA とAlb 遺伝子転写速度が有意の正相関関係を示すことから, Alb mRNA の増加が遺伝子転写の亢進によることが示された。

(2) H4 II E cell

- ① Alb mRNA およびApoB mRNA レベルはmedium中のアルブミン濃度依存性に低下したが, β -Act mRNA は影響を受けなかった。膠質浸透圧を変化させる目的で, 分子量 6 - 9 万の高分子デキストランを添加した場合もほぼ同様の結果であった。
- ② Alb およびApoB 遺伝子転写速度もデキストラン濃度依存性に低下したことから, 膠質浸透圧がAlb およびApoB 遺伝子転写調節のシグナルであることが示唆された。
- ③ 逆に, 8 g / dl のデキストラン濃度のmediumで15時間 incubate 後, 0, 2, 4, 8 g / dl のmediumに変えた場合, Alb mRNA およびApoB mRNA レベルはデキストラン濃度が低下するほど上昇した。
- ④ 分子量の異なるデキストラン (6 - 9 万, 12 万, 48 万) および γ -グロブリン (分子量15万) を8 g / dl の濃度でmediumに添加した場合, 分子量が大きくなるほどAlb mRNA およびApoB mRNA レベルの抑制効果は小さくなった。

〔総 括〕

- (1) ネ症モデルラットにおいて、肝A1b合成は遺伝子転写レベルで亢進を認めた。ApoB 合成もmRNAレベルで上昇を認めた。
- (2) 培養細胞において、A1b mRNAおよびApoB mRNAレベルはmedium 中のアルブミン、デキストラン等高分子物質の濃度依存性に変化することから、膠質浸透圧の変化が肝細胞に作用し、分泌蛋白の合成を調節することが示唆された。
- (3) (2)で示されたA1bおよびApoB mRNA の変化は、遺伝子転写速度の変化に起因すると考えられた。

論文の審査結果の要旨

本研究は、ネフローゼ症候群の肝アルブミン、アポリポ蛋白B合成が遺伝子転写レベルで亢進していることをはじめて明らかにしたものである。さらに培養細胞を用いて、アルブミン、アポリポ蛋白BのmRNA レベルおよび遺伝子転写速度が、牛血清アルブミン、デキストランなど高分子物質の濃度依存性に変化することより、膠質浸透圧の低下が肝分泌蛋白合成亢進のシグナルになっていることを示唆する成績を得た。ネフローゼ症候群の肝分泌蛋白合成亢進は高脂血症、凝固亢進など重要な合併症をひき起こすと考えられ、その治療法の開発に資すること大であり、学位に値するものと考えられる。