

Title	腎臓の発生、癌化、再生における gicerin の役割
Author(s)	高羽, 夏樹
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39005
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	高 羽 夏 樹
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11766 号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	腎臓の発生、癌化、再生における gicerin の役割
論文審査委員	(主査) 教授 三木 直正 (副査) 教授 宮坂 昌之 教授 奥山 明彦

論文内容の要旨

【目的】

NOF (neurite outgrowth factor, 神経突起伸長因子) はラミニンファミリーに属する細胞外マトリックス分子で、約700kDaの糖タンパク質である。NOFの受容体である gicerin は、82kDaの糖タンパク質で、イムノグロブリンスーパーファミリーに属する新しい膜タンパク質であることをすでに明らかにしている。gicerin はNOFとヘテロフィリックに、自身とはホモフィリックに結合する性質を持っている。いくつかの細胞外マトリックス分子および細胞接着分子が、腎の発生に関与することがすでに報告されているので、NOF および gicerin の腎発生における発現を、ニワトリの腎を用いて検討した。腎の正常発生に加え、癌化および再生における gicerin の発現についても、ウィルムス腫瘍、伝染性気管支炎ウイルスによる間質性腎炎を用いて検討した。

【方法ならびに成績】

1. ニワトリ胚の腎臓における gicerin および NOF の発現

NOF および gicerin の発現部位を、抗NOF および抗 gicerin 血清を用いて、間接蛍光抗体法により免疫組織化学法で検討した。造後腎中胚葉細胞は、尿管芽の侵入による誘導を受けて、尿管芽の周囲に凝集する段階より、凝集が、帽子状、コマ状、S状となり尿管芽より分岐した集合管と結合するまで、細胞表面に、強い gicerin の発現を認めた。NOF は中胚葉細胞の凝集を囲む基底膜にのみ発現を認めた。12日目胚では、幼若な糸球体を認め、gicerin、NOF 共にその発現を認めた。尿管芽より分岐する尿管、集合管の上皮細胞に gicerin の発現を認め、基底膜にのみ NOF の発現を認めた。

2. 生後のニワトリの腎臓における gicerin および NOF の発現

gicerin の染色は胚と比較すると弱く、またネフロンに限局した部位にのみ認めた。つまり、糸球体、近位尿細管および髓質係蹄の上皮細胞にのみ gicerin の発現を認めた。一方、NOF は発生を通じ恒常的に基底膜および糸球体のマトリックスに発現していた。

3. ノーザンブロット法

gicerin cDNA をプローブとし、ノーザンブロット法を行い、腎発生における gicerin の発現の変化を検討した。14日目胚の腎臓では5.2kbのバンドを認めたが、生後14日目の腎臓では6.4kbのバンドを認めた。腎臓における mRNA の転写は14日目胚に比して生後14日目では減少していた。

4. ウェスタンブロット法

胚およびヒナの腎臓の上清分画, 膜分画を用いて, それぞれNOF および gicerin の発現を検討した。ウェスタンブロット法では, 腎臓における gicerin の発現には発生を通じて質的な変化は認めず, 82および90kDa のダブルットバンドを認めた。腎臓における gicerin 蛋白質の発現量は, 14日目胚で最高となり, 生後には漸減した。腎臓におけるNOF は, 発生を通じ約200kDa の数本のバンドを認め, 量的にも変化は認めなかった。

5. ウィルムス腫瘍および腎の再生における gicerin の再発現

ニワトリの自然発生ウィルムス腫瘍の免疫組織化学では, 腎芽細胞様の未分化な腫瘍細胞では強い gicerin の染色を認めたが, 管腔を形成している上皮細胞様の比較的分化した腫瘍細胞では, gicerin の染色は非常に弱いか, もしくは全く認めなかった。ウェスタンブロット法では, 正常の腎臓と同様の gicerin のバンドを認めたが, 腫瘍に特異的なバンドは認めなかった。また, 発現量は正常の腎臓に比して, 著明に増加していた。伝染性気管支炎ウイルスのいくつかの株は, 主にニワトリの腎臓の髄質に間質性腎炎を引き起こすことが知られている。生後25日目のホワイトレグホンに, 伝染性気管支炎ウイルスを, 経静脈的に接種し, 接種後6日目に腎臓を摘出し, 免疫組織化学を行った。正常発生では生後, 集合管における gicerin の発現は消失するが, 間質性腎炎では, 再生中の集合管上皮に gicerin の再発現を認めた。

【総括】

本研究では, 腎臓の発生過程において以下の3つの段階で gicerin が役割を果たしていると考えられる。1) 造後腎中胚葉細胞は尿管芽の侵入により誘導を受けて尿管芽の周囲に凝集するが, この段階で gicerin を発現していることから, gicerin はホモフィリックな結合活性により, この凝集に関与している。2) 造後腎中胚葉細胞に由来するS状体と尿管芽に由来する集合管の結合の段階で, gicerin が両者に発現していることより, ホモフィリックな結合活性がこの結合に役割を果たしている。3) 上皮細胞の基底膜側の細胞膜に発現している gicerin は, 基底膜に発現しているNOF とヘテロフィリックに結合し, 側方の細胞膜に発現している gicerin は隣り合う上皮の gicerin とホモフィリックに結合することにより, gicerin が管腔形成に関与している。

gicerin は腎臓では胎生期に強く発現し, 生後には漸減した。発生過程において, この様な発現形式をとる分子の中には, 癌細胞および再生中の組織で再発現するものが報告されている。ウィルムス腫瘍では, gicerin の発現が正常な腎臓に比して著明に増加していた。生後, gicerin は集合管に観察されなくなるが, 伝染性気管支炎ウイルスによる間質性腎炎の回復期にある集合管で再発現していた。

以上の結果より, gicerin の発現が腎臓の正常発生のみならず癌化, 再生においても制御されており, 腎臓の形成に重要な役割を果たしていることが示唆される。

論文審査の結果の要旨

NOF (neurite outgrowth factor, 神経突起伸展因子) はラミニンファミリーに属する細胞外マトリックス分子である。gicerin はNOF とヘテロフィリックに, 自身とはホモフィリックに結合する細胞接着分子である。いくつかの細胞外マトリックス分子および細胞接着分子が腎形成に関与することが報告されている。本研究では, 細胞外マトリックス分子であるNOF および細胞接着分子である gicerin の腎発生における発現を, ニワトリの後腎を用いて検討した。発生過程での発現形式より gicerin が, 造後腎中胚葉細胞の尿管芽周囲への凝集, S状体と集合管の結合には, ホモフィリックな結合活性により, 尿細管の管腔形成にはホモフィリックおよびヘテロフィリックな結合活性により役割を果たしていることを推察している。また, 本研究では, 腎の正常発生に加え, 癌化および再生における gicerin の発現についても, ウィルムス腫瘍, 伝染性気管支炎ウイルスによる間質性腎炎を用いて検討した。ウィルムス腫瘍では, blastemal cell における著明な gicerin の発現の増加を, 間質性腎炎では, 回復期の集合管上皮における gicerin の再発現を見いだした。本研究は新しい細胞接着分子である gicerin が, 正常の腎発生に関与していることを示唆するのみならず, 腎臓の癌化, 再生においてもその発現が制御されていることを明らかにしたものであり, 学位授与に値するものであると認める。