

Title	糸球体メサンギウム細胞におけるMAPキナーゼ脱リン酸化酵素MKP-1 (MAP kinase phosphatase-1) の遺伝子発現とその意義
Author(s)	諶, 霞
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39830
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	ちん 謹 しゃー 霞
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 3 9 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	糸球体メサンギウム細胞におけるMAPキナーゼ脱リン酸化酵素MKP-1 (MAP kinase phosphatase-1) の遺伝子発現とその意義
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 鎌 田 武 信 (副査) 教 授 安 東 明 夫 教 授 高 井 義 美

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

糸球体メサンギウム細胞 (MC) 増殖は糸球体腎炎の進展過程において重要な役割を果たしている。MC増殖過程には血小板由来増殖因子 (PDGF), 上皮成長因子 (EGF), アンギオテンシンII (AngII), アルギニンバゾプレッシン (AVP), エンドセリン-1 (ET-1) などの種々の因子が関与することが知られており, これら因子の刺激伝達系の下流にMAPキナーゼが存在する。MAPキナーゼはMAPキナーゼキナーゼによってThr (183) とTyr (185) のリン酸化を受けることで活性化される。その不活性化はMKP-1 (MAP kinase phosphatase-1) と呼ばれるスレオニン/チロシン両残基に特異的な蛋白質脱リン酸化酵素によって行われる。MKP-1はNIH3T3細胞において1985年に同定された immediately early gene の一種である。本研究はMKP-1の糸球体メサンギウム細胞増殖における関与を明らかにする目的で, 培養MCおよび実験腎炎モデルラット糸球体におけるMKP-1の発現動態を検討した。さらに, 誘導されたMKP-1の機能を明らかにするために, MKP-1に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド (AS-ODN) を用い, 培養MCにおけるMAPキナーゼ活性調節および細胞増殖過程におけるMKP-1の役割を検討した。

〔方法ならびに成績〕

1. ラットMCの培養と同定

Sprague-Dawley 系雄性ラット (4週令, 約100g) より腎皮質から sieving 法によって糸球体を単離した。単離糸球体を培養後3週間頃優勢となる細胞を4-6継代し, 実験に供した。MCは, (1)星状あるいは紡錘型の細胞であること, (2)hill and valley と呼ばれる特徴的な増殖形態を呈すること, (3)細胞の内部に豊富な actin 線維を有すること, 及び(4)desmin, vimentin, α -smooth muscle actin 染色で陽性であることから同定した。

2. 培養MCにおけるMKP-1遺伝子発現誘導

1) 血清によるMKP-1 mRNA の発現

培養MCを48時間無血清培養後, 10% FCSにより刺激し, total RNAを経時的に単離し, Northern blottingを施行した。FCS刺激前にはMKP-1 mRNA発現はほとんど認められなかったが, 刺激後15分間でMKP-1 mRNAが認められ, 60分間で最大 (対照の7倍) となった。

2) 増殖因子及び血管作動性ペプチドによるMKP-1 mRNA 発現

KP-1が、メサンギウム細胞の増殖刺激の伝達に必要であることをMKP-1に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いた実験で見出した。アンチセンスオリゴ処理の結果、増殖因子刺激により活性化されたMAPキナーゼが不活性化されず、MAPキナーゼ活性が持続した。さらに、メサンギウム増殖性腎炎モデルラットの糸球体でMKP-1の遺伝子発現が亢進していることも明らかとした。以上の知見は、メサンギウム細胞増殖過程において、MAPキナーゼの活性化とともにその不活性化が重要な役割を果たすことを提唱するものである。本研究は、メサンギウム細胞増殖機構およびメサンギウム増殖性腎炎の病態の理解に新たな視点を与えるものとして高く評価されるものであり、学位に値するものと考えられる。