

Title	CCAAT/Enhancer-Binding Protein δ Contributes to Myofibroblast Transdifferentiation and Renal Disease Progression
Author(s)	竹治, 正展
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45434
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	たけ じ まさ のぶ 竹 治 正 展
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 19254 号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	CCAAT/Enhancer-Binding Protein δ Contributes to Myofibroblast Transdifferentiation and Renal Disease Progression. (腎病態時における細胞形質転換に関与する転写因子の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 堀 正二 (副査) 教授 審良 静男 教授 祖父江憲治

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

様々な臓器の炎症性の病態では間質に分布する細胞が筋線維芽細胞 (myofibroblast) に形質転換し、種々の炎症性サイトカインや細胞外基質の産生に関わると考えられている。腎においては糸球体病変でメサンギウム細胞が、間質病変で線維芽細胞が形質転換して筋線維芽細胞となる。形質転換を生じた細胞では主に血管平滑筋細胞に発現している各種平滑筋関連タンパクが新たに発現し、その中でも平滑筋 α アクチン ($SM\alpha A$) が強く発現することが知られている。本研究では $SM\alpha A$ の転写調節機構の解析を基に、その転写促進に関与する因子の中に腎の病態進展にも関与しているものが存在すると考え、その因子の同定および腎病態進展における機序と重要性を明らかにすることを目的とした。

[方法ならびに成績]

ヒト $SM\alpha A$ の遺伝子発現には、その第1イントロン内の137塩基対が発現に不可欠であり (Kawada N, et al. *Kidney Int*, 1999)、その中に存在する CArG motif (CC[A/T]₆GG) は平滑筋関連タンパクの転写調節領域に広く分布している配列で、その周辺配列は異種間でよく保存されている。この CArG motif 周辺配列 (CArG#0) に結合する転写因子群を、成人ヒト腎 cDNA ライブラリを用いて yeast one-hybrid system にて解析したところ、これまでに炎症に関与する種々のタンパクの発現を促進することが報告されている転写因子 CCAAT/Enhancer-binding protein (C/EBP) δ が候補として見つかった。C/EBP δ タンパクは C/EBP コンセンサス配列とオーバーラップしている CArG#0 配列に特異的に結合し、培養細胞における C/EBP δ 発現ベクターと CArG#0 配列を接続したレポーターベクターとの co-transfection 実験において CArG#0 のプロモーター活性を上昇させ得ることが確認された。また、ラットの実験的糸球体腎炎モデル (抗 Thy1 抗体腎炎) の組織サンプルにおいて、メサンギウム細胞の増生部分では $SM\alpha A$ の発現領域すなわち筋線維芽細胞の出現部位に一致して C/EBP δ の発現が増加していた。次に、C/EBP δ の腎病変形成における意義を明らかにするため、C/EBP δ ノックアウトマウスを用いた実験を行った。培養メサンギウム細胞は、培養条件下においては生理的状態と異なって $SM\alpha A$ を発現しており筋線維芽細胞のモデルと考えられているが、C/EBP δ のノックアウトマウス由来の培養メサンギウム細胞では野生型由来に比較して $SM\alpha A$ mRNA の発現が

低下していた。同時に、腎病変進行に重要な働きをしている **monocyte/macrophage chemoattractant protein-1 (MCP-1) mRNA** の発現も低下していた。メサンギウム増殖性糸球体腎炎モデル（ハブ毒腎炎）では、野生型と比較して病変部の **SM α A** の発現が減少し、腎機能の悪化も抑制されていた。腎間質線維化モデル（一側尿管結紮水腎症）においても、**SM α A** および間質線維化の主成分である I 型コラーゲンについて、**mRNA** の発現をリアルタイム PCR 法で定量的に検討したところ、**C/EBP δ** のノックアウトマウスでは有意にそれらの発現が減少していた。

[総 括]

C/EBP δ は病態時に出現する筋線維芽細胞において発現が上昇しており、**SM α A** 遺伝子に対して第 1 イントロンの **CArG motif** 周辺への結合を介して発現の上昇をもたらすことが判明した。また、**C/EBP** コンセンサス配列は I 型コラーゲンや **MCP-1** 等の腎病変形成に重要なタンパクのプロモーター領域にも存在していることから、それらの発現上昇を介して **C/EBP δ** が腎病変促進に関わっている可能性がある。**C/EBP δ** の作用を阻害することは進行性腎疾患の抑制に役立つと考えられる。

論文審査の結果の要旨

腎を含む様々な臓器の炎症性の病態では間質に分布する細胞が筋線維芽細胞 (**myofibroblast**) に形質転換し、種々の炎症性サイトカインや細胞外基質の産生に関わると考えられている。

竹治正展君は、その細胞で強く発現する平滑筋 α アクチン (**SM α A**) に着目し、その転写促進に関与する因子の中に腎の病態進展にも関与しているものが存在すると考えて研究を行った。成人ヒト腎 cDNA ライブラリを用いた **yeast one-hybrid system** の解析にて、転写因子 **C/EBP δ** が候補として見つかった。**C/EBP δ** は実際に **SM α A** のプロモーター領域に結合し活性を上昇させ得ることを示した。また、ラットの実験的糸球体腎炎モデルの組織において、メサンギウム細胞の増生部分では **SM α A** の発現領域すなわち筋線維芽細胞の出現部位に一致して **C/EBP δ** の発現が増加していることを示した。**C/EBP δ** ノックアウトマウスを用いた実験で、同マウス由来の培養メサンギウム細胞では野生型由来に比較して **SM α A mRNA** の発現が低下して居ると同時に、腎病変進行に重要な働きをしている **monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) mRNA** の発現も低下していることを示した。メサンギウム増殖性糸球体腎炎モデル（ハブ毒腎炎）では、野生型と比較して病変部の **SM α A** の発現が減少し、腎機能の悪化も抑制されていた。腎間質線維化モデル（一側尿管結紮水腎症）においても、**SM α A** および間質線維化の主成分である I 型コラーゲンの **mRNA** 発現は野生型に比べて有意に抑制されていることを示した。

本論文において **C/EBP δ** が腎病変促進に重要であることが示された。**C/EBP δ** の作用を阻害することは進行性腎疾患の抑制に役立つと考えられ、医学的に重要な知見である。よって、本論文は学位に値すると認める。