

氏 名 (本 籍) 瀧 北 幹 子 (京 都 府)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 (論) 第 3 1 3 号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 5 年 9 月 1 0 日

学 位 論 文 題 目
Activation of Src kinase in platelet-derived growth
factor-B-dependent tubular regeneration after acute ischemic renal
injury

(虚血性腎障害後に生じる尿細管細胞の PDGF-B 依存性再生における、活性型 Src
kinase の発現と役割)

審 査 委 員
主 査 教 授 岡 田 裕 作
副 査 教 授 服 部 隆 則
副 査 教 授 岡 村 富 夫

論文内容要旨

※整理番号	316	(ふりがな) 氏名	たききた みきこ 瀧北 幹子
学位論文題目	<p>Activation of Src kinase in platelet-derived growth factor-B-dependent tubular regeneration after acute ischemic renal injury. (虚血性腎障害後に生じる尿細管細胞の PDGF-B 依存性再生における、活性型 Src kinase の発現と役割)</p>		
<p>【目的】 腎虚血性障害は、急性尿細管壊死を生じ、急性腎不全の重要な原因となる。虚血性障害を受けると、外側髄質外層に含まれる近位尿細管の S3 部位が主に障害され、その後に尿細管細胞の再生が生じるが、この再生に様々な増殖因子が関与している。血小板由来増殖因子 B (PDGF-B) が尿細管細胞の再生に重要な役割を果たしていることが報告されており、本研究では PDGF-B の情報伝達に着目し、PDGF-B の下流に存在する Src kinase が PDGF-B 依存性に生じる尿細管細胞の再生において果たす役割について検討した。実験に際し、活性化型 Src kinase を特異的に検出する抗体を使用した。</p> <p>【方法 (虚血・再灌流による腎不全モデルの作成)】 ラットを開腹後、両側腎動脈を結紮し、体温を 37℃ に保ちながら、30 分間虚血状態を維持した。結紮を解除して腎臓に血液を再灌流させることにより、虚血性腎障害による急性腎不全モデルを作成した。所定の時間後に再開腹し、腎臓からリンゲル液を灌流して脱血させ、さらに固定液で灌流した後、腎臓を摘出して実験 (Western blot 法、活性型 Src kinase 測定、PDGF receptor-beta のリン酸化の検討、免疫組織化学) に用いた。</p> <p>【結果および考察】 摘出腎の中の外側髄質外層に相当する部分を切りだし、タンパク発現を調べると、正常腎に比べ腎不全モデルにおいて活性型 Src kinase の発現は有意に増加しており、再灌流後 12 時間でピークに達し、その後減少した。PDGF-B の受容体 PDGF receptor-beta への結合を阻害する Trapidil をラットに投与すると、腎不全モデルにおける活性型 Src kinase の発現の増加は抑制された。Src kinase の活性測定においても同様の結果を得、再灌流後 12 時間において、活性は約 3.7 倍増加したが、これも Trapidil の投与により抑制された。この Src kinase の活性化が PDGF-B 依存性に PDGF-B/PDGF receptor-beta の経路を介して生じていることを確認す</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

るために、PDGF receptor-beta のリン酸化を検討すると、再灌流後 12 時間において、リン酸化は約 3.7 倍増加しており、Src kinase の活性測定とほぼ同様の結果を得た。Trapidil 投与により PDGF receptor-beta のリン酸化は減少したものの完全には抑制されなかったため、腎不全モデルに見られる Src kinase の活性化は、部分的に PDGF-B/PDGF receptor-beta の経路を介しているが、他の増殖因子も関与している可能性が考えられた。

次に活性型 Src kinase の局在を免疫組織化学にて検討した。正常腎において活性型 Src kinase は遠位尿細管、thick ascending limb の胞体に発現しており、集合管の胞体も弱く染色された。糸球体や近位尿細管に有意な染色はなく、外側髄質外層の近位尿細管 S3 部位にも発現していなかった。しかし虚血・再灌流後には、障害を受けた近位尿細管 S3 部位に見られる扁平化した細胞に活性型 Src kinase の発現が観察された。この活性型 Src kinase の発現を示した細胞は、同時に PDGF receptor-beta を発現していることが二重染色にて確認された。またこの細胞は細胞増殖のマーカである proliferating cell nuclear antigen (PCNA) も陽性となったことより、虚血性障害を受けた近位尿細管 S3 部の細胞の再生性増殖において、PDGF-B/PDGF receptor-beta の経路を介して活性型 Src kinase が関与していると推察された。

PDGF-B の阻害剤である Trapidil を投与した腎不全モデルにおいて活性型 Src kinase の発現を調べると、Trapidil を投与しない場合の腎不全モデルと同様に障害を受けた近位尿細管 S3 部位の扁平化した細胞が染色されたが、その発現は減弱していた。これは、前述した活性化型 Src kinase のタンパク発現および酵素活性、PDGF receptor-beta のリン酸化の検討において、腎不全モデルで見られた各々の増加が Trapidil 投与により抑制されたことと合致する結果であった。さらに Trapidil を投与して PCNA の発現を検討すると、Trapidil を投与しない腎不全モデルで観察された近位尿細管 S3 部位の陽性細胞の数が減少しており、組織所見からも尿細管細胞の再生が抑制されることが確認された。また Trapidil 投与により、血清 creatinine はさらに上昇しており、実際に腎不全が悪化していた。

【結論】

虚血性腎障害後に生じる、PDGF-B 依存性の尿細管細胞の再生に、PDGF-B/PDGF receptor-beta の経路を介して活性型 Src kinase が関与している可能性が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	316	氏名	瀧北幹子
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>本研究は、虚血性障害後の腎臓で生じる、血小板由来増殖因子 B (PDGF-B) 依存性の尿細管細胞の再生において、PDGF-B の情報伝達の下流に存在すると考えられている Src kinase の活性化が関与しているかを、腎虚血再灌流モデルを用いて検討したものである。その結果、活性化型 Src kinase のタンパク発現および活性は腎虚血再灌流後の腎臓 (外側髄質外層) において増加しており、活性化型 Src kinase は障害を受けた部位の再生過程の細胞に、血小板由来増殖因子受容体 β (PDGFR-β) と同時に発現していた。PDGF-B/PDGR-β axis を介した尿細管細胞の再生に、活性化型 Src kinase が関与している可能性が示唆された。</p> <p>本研究は、Src kinase の活性化が尿細管細胞の再生に関与していることを実証し、急性腎不全に対する新たな治療を開発する一助となる可能性を示したものである。従って、博士 (医学) 授与に価するものと判定した。</p> <p>最終試験は平成 15 年 8 月 27 日に実施し、合格と判定した。</p>			
(平成 15 年 9 月 3 日)			