

氏名(本籍)	渋谷 和之(滋賀県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士第495号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位論文題目	N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline prevents renal insufficiency and mesangial matrix expansion in diabetic db/db mice. (N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline(Ac-SDKP)は、糖尿病モデル動物であるdb/dbマウスのメサンギウム領域の拡大と腎機能障害を抑制する)
審査委員	主査 教授 岡田 裕作 副査 教授 堀池 喜八郎 副査 教授 服部 隆則

論文内容要旨

※整理番号	499	(ふりがな) 氏名	しぶ や かず ゆき 渋谷 和之
学位論文題目	<p>N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline prevents renal insufficiency and mesangial matrix expansion in diabetic <i>db/db</i> mice.</p> <p>{N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline (Ac-SDKP) は、糖尿病モデル動物である <i>db/db</i> マウスのメサンギウム領域の拡大と腎機能障害を抑制する。}</p>		
<p>【背景と目的】 我々は、これまでに N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline (Ac-SDKP) が Smad 経路の抑制を介して TGF-βにより誘発される細胞外基質の発現を抑制することを報告した。そこで、Ac-SDKP が糖尿病性腎症の進展を抑制する効果を有するか否かを、2型糖尿病モデル動物である <i>db/db</i> マウスを用いて検討をおこなった。</p> <p>【方法】 1) 2型糖尿病のモデル動物である 10 週齢の <i>db/db</i> マウスに、浸透圧ポンプを用い Ac-SDKP (1000μg/kg/day) の持続投与を 8 週間行なった。</p> <p>2) 投与 8 週後に腎臓を摘出し、PAS 染色を施行した後、糸球体面積とメサンギウム領域を画像処理解析装置を用いて定量を行なった。</p> <p>3) フィブロネクチン、IV 型コラーゲンは、免疫組織化学法にて検討した。</p> <p>4) 腎機能は、血漿クレアチニン値と尿中アルブミン排泄量をそれぞれ酵素法及び ELISA 法にて測定することによって評価した。</p> <p>5) Smad 経路に対する抑制効果を検討するため、Smad3 に対する免疫組織化学法と核蛋白分画のサンプルを用いたウエスタンブロット法を行なった。</p> <p>6) 腎組織の TGF-βI および TGF-βII 型レセプターの蛋白発現を、それぞれ ELISA 法と免疫組織化学法にて検討した。</p> <p>【結果】 Ac-SDKP 持続投与の 8 週後、</p> <p>1) コントロールの <i>db/m</i> マウスに比して、<i>db/db</i> マウスにおいて認められた糸球体面積の増大とメサンギウム領域の拡大は、Ac-SDKP 投与にて有意に改善した。</p> <p>2) フィブロネクチンや IV 型コラーゲンの細胞外基質の発現は、コントロールの <i>db/m</i> マウスに比して <i>db/db</i> マウスにおいて増加が認められたが、これら発現増強は Ac-SDKP 投与にて有意に改善した。</p> <p>3) 血漿クレアチニン値は、コントロールの <i>db/m</i> マウスに比して <i>db/db</i> マウスにおいて上昇が認められたが、Ac-SDKP 投与にて有意に改善した。しかし、<i>db/db</i> マウスにおいてみられた尿中アルブミン排泄量の増加は、Ac-SDKP 投与によって改善されなかった。</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。

4) Smad3 が核に濃染する細胞比率は、コントロールの *db/m* マウスに比して *db/db* マウスにおいて増加が認められたが、Ac-SDKP 投与にて有意に減少した。同様に、ウエスタンブロット法でも、核内 Smad3 の蛋白発現は、コントロールの *db/m* マウスに比して *db/db* マウスにおいて増加が認められたが、Ac-SDKP 投与にて有意に減少した。

5) 腎組織での TGF- β 1 発現は、コントロールの *db/m* マウスに比して *db/db* マウスでは増強しており、その発現増強は Ac-SDKP 投与にて改善しなかった。一方、TGF- β II 型レセプター発現は、コントロールの *db/m* マウスに比して *db/db* マウスでは増強していたが、Ac-SDKP 投与にて顕著に改善した。

【考察】 2 型糖尿病モデル動物である *db/db* マウスは、糖尿病の発症とともに、糸球体肥大、メサンギウム領域の拡大、細胞外基質の沈着を特徴とする組織病変と、尿中アルブミン排泄量および血漿クレアチニンが増加する腎機能障害を発症し、ヒト糖尿病性腎症の初期病変に類似した病態を呈するモデル動物である。

Ac-SDKP を 8 週間持続投与することより、尿中アルブミン排泄量に対する改善効果は認められなかったものの、組織病変と血漿クレアチニン値の有意な改善を認めた。さらに、これら Ac-SDKP の作用機構として、Smad3 の核内への移行が抑制されていたことより、*in vitro* 系での我々の報告と同様に、*in vivo* 系においても Smad 経路の抑制を介するものであることが示唆された。

以上より、Ac-SDKP は TGF- β /Smad 経路の抑制を介して糖尿病性腎症の進展を抑制することが明らかとなり、今後、Ac-SDKP は糖尿病性腎症の有効な治療法となり得る可能性が示唆された。

【結語】 Ac-SDKP は、糖尿病性腎症に対し有効な治療法となり得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	499	氏名	渋谷 和之
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>糖尿病性腎症の進展過程には TGF-βが重要な役割を担っていると考えられている。本研究は、抗 TGF-β作用を持つ N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline (Ac-SDKP)を糖尿病モデル動物(<i>db/db</i> マウス)に投与し、糖尿病性腎症の進展抑制効果について検討したものである。</p> <p>その結果、次のことを明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none">1. Ac-SDKP 投与により、細胞外基質であるフィブロネクチンと IV 型コラーゲンの蓄積、組織病変 (糸球体面積の増大とメサンギウム領域の拡大)、更に血漿クレアチニンの上昇は抑制される。2. Ac-SDKP は <i>in vivo</i> でも TGF-β/Smad 経路に対する抑制効果を有する。 <p>このように本論文は、糖尿病性腎症に対する Ac-SDKP の作用を明らかにし、治療法としての可能性を示唆したものである。よって、博士 (医学) の学位論文に値するものと認める。</p>			
(平成17年 2月14日)			