Angiotensin IIは糸球体内 PDGF の発現を調節している

田中亮二郎^{*1}・Agnes Fogo^{*2}

要 旨

Angiotensin II (A II) が、メサンジウム細胞増殖因子である PDGF の発現を調節しているか？ さらに糸球体内 PDGF の発現とメサンジウム基質の増生、糸球体硬化との関連について調べた。垂腎摘ラット作製後、Angiotensin II receptor antagonist (AIIIRA) 投与群、Reserpine, Hydralazine, Hydrochlorothiazide (三者) 投与群、無治療群に分け、腎摘後1週目と4週目に屠殺し、組織学的検討と Northern blotting による PDGF mRNA の発現の検討を行った。無治療群では、正常ラットに比較して糸球体硬化と糸球体 PDGF の染色の程度は有意に増加した。一方 AIIIRA 投与群では、糸球体硬化と糸球体 PDGF 染色の程度は正常ラットと同程度に抑制された。しかしながら三者投与群では、血症は AIIIRA 投与群

と同程度にコントロールされたが、糸球体 PDGF 染色の程度は増加した。PDGF mRNA の発現は、無治療群、三者投与群で増加し、AIIIRA 投与群で抑制された。以上のことより、A II は糸球体内 PDGF の発現を蛋白レベルでも mRNA レベルでも調節していた。また連続切片による同一糸球体内での硬化の程度と PDGF 免疫染色の程度を比較してみると、糸球体硬化の初期病変と PDGF の発現は強い相関を示した。

序 言

Angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI) あるいは Angiotensin II receptor antagonist (AIIIRA) は、5/6 腎摘モデルやピュロマイシンネフローゼモデルにおいて蛋白尿や糸球体硬化の進行を抑制することが報告されている^{1)~3)}。一方 Angiotensin II (A II) は、in vitro で血管収縮因子として働くのみでなく、血管平滑筋細胞やメサンジウム細胞に対して growth factors として働き、さらに c-fos, c-myc 等の癌遺伝子や PDGF, TGF β 等の growth factors の発現を調節していることがわかってきた^{4)~7)}。5/6 腎摘モデルにおける糸球体硬化進行過程におい

^{*1}鐘紡記念病院 小児科
(〒652 神戸市兵庫区御崎町1-9-1)

^{*2}Vanderbilt University

Angiotensin II modulates expression of glomerular PDGF

Ryojiro Tanaka^{*1}, Agnes Fogo^{*2}

^{*1}Kanebo Memorial Hospital, Department of Pediatrics, ^{*2}Vanderbilt University, Department of Pathology

Key Words : Angiotensin II
PDGF

Angiotensin converting enzyme inhibitor
Angiotensin II receptor antagonist

て、糸球体肥大やメサンジウム基質の増生は糸球体硬化に先行しておこり、growth promoter が糸球体肥大やメサンジウム基質の増生に関与すると考えられるが、糸球体硬化に関する特異的な growth promoter は明らかでない。最近 PDGF や PDGF receptor がメサンジウム増殖性腎炎 (anti-Thy-1 glomerulonephritis), 5/6 腎摘モデルにおいて増加していることが明らかになり⁸⁾⁹⁾, 糸球体硬化進行に重要な役割をはたしていると考えられる。本稿では、1. A II がメサンジウム細胞増殖因子である PDGF の発現を調節しているか? 2. さらに糸球体内 PDGF の発現とメサンジウム基質の増生、糸球体硬化との関連について調べた¹⁰⁾。

方 法

5/6 腎摘ラット作製後、Angiotensin II receptor antagonist (A II RA, 80mg/ℓ drinking water) 投与群 (N=11), Reserpine, Hydralazine, Hydrochlorothiazide (三者, 5 mg/ℓ, 80mg/ℓ, 25mg/ℓ drinking water) 投与群 (N=5), 無治療群 (N=12) に分け、経時的に血圧を測定した。腎摘後 1 週目と 4 週目に屠殺し、組織学的検討 (糸球体硬化指数 S.I., PDGF 染色スコアと in situ hybridization) と Northern blotting による PDGF mRNA の発現の検討を行った。糸球体硬化指数 (S.I.) は、Raij らの方法によった¹¹⁾。PDGF 免疫染色には、マウスモノクローナル抗体 PGF-007 が用いられた。Northern blotting では、腎臓から抽出された RNA が各群でプールされ使用された。コントロールとして正常ラット (N=5) を用いた。

結 果

正常ラット群では S.I.=0.05, 染色スコア=0.19 であったが、無治療群では、腎摘 4 週後 S.I.=0.41, PDGF 染色スコア=0.81 と有意に増加した ($P<0.05$)。一方 A II RA 投与群では、S.I.=0.08, PDGF 染色スコア=0.22 と正常群と同程度に抑制された。しかしながら三者投与群では、血圧は A II RA 投与群と同様にコントロールされ

たが、S.I.=0.14, PDGF 染色スコア=0.86 であった。Northern blotting による PDGF mRNA の発現は、無治療群、三者投与群で増加し、A II RA 投与群で抑制された。また PDGF-B の cRNA を probe とした in situ hybridization では、PDGF mRNA の発現は、正常ラット糸球体内には、微量に認められるのみであったが、腎摘 4 週後の無治療ラット糸球体内には増加していた。またその発現パターンは免疫染色の発現パターンと一致していた。連続切片による同一糸球体内での PAS 染色による硬化の程度と PDGF の免疫染色の程度を比較してみると、正常ラットの糸球体は、11% に PDGF の発現を認めるのみであったが、無治療群では、硬化性病変のない糸球体の 40% に PDGF の発現を認め、さら硬化を伴う糸球体ではその発現は増強していた。しかしながら硬化性病変の部分では逆にその発現は減弱していた。

考察、結語

1. Angiotensin II は、糸球体内 PDGF の発現を蛋白レベルでも mRNA レベルでも調節していた。

2. 糸球体硬化の初期病変と PDGF の発現は強い相関を示した。糸球体内異常 PDGF を発現する early stage の糸球体は、硬化へと進行していくことが示唆された。これら early stage の糸球体は、A II inhibitor により糸球体硬化への進行が阻止されることが期待できる。しかし糸球体硬化過程において、PDGF のみならず各種 growth factor が異なる段階で関与している可能性があり、今後これらの関係を明らかにする必要がある。

文 献

- 1) Ikoma M., Kawamura T., Kakinuma Y., Fogo A. and Ichikawa I.: Cause of variable therapeutic efficiency of angiotensin converting enzyme inhibitor on glomerular lesion. *Kidney Int.* 40: 195-202, 1991.
- 2) Kakinuma Y., Kawamura T., Bills T., Yoshioka T., Ichikawa I. and Fogo A.: Blood pressure-independent effect of angiotensin inhibition on vascular lesions of chronic renal failure. *Kidney Int.* 42: 46-55, 1992.
- 3) Tanaka R., Kon V., Yoshioka T., Ichikawa I. and

- Fogo A. : Angiotensin converting enzyme inhibitor modulates glomerular function and structure by distinct mechanisms. *Kidney Int.* 45 : 537-543, 1994.
- 4) Taubman M. B., Berk B. C., Izumo S., Tsuda T., Alexander R. W. and Nadal-Ginard B. : Angiotensin II induces c-fos mRNA in aortic smooth muscle. *J. Biol. Chem.* 264 : 526-530, 1989.
 - 5) Naftilan A. J., Pratt R. E. and Dzau V. J. : Induction of platelet-driven growth factor A chain and c-myc gene expressions by angiotensin II in cultured rat vascular smooth muscle cells. *J. Clin. Invest.* 83 : 1419-1424, 1989.
 - 6) Nakahara K., Nishimura H., Kuro-o M., Takewaki S., Iwase M., Ohkubo A., Yozaki Y. and Nagai R. : Identification of three types of PDGF-A chain gene transcripts in rabbit vascular smooth muscle and their regulated expression during development and by angiotensin II. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 184 : 811-818, 1992.
 - 7) Gibbons G. H., Pratt R. E. and Dzau V. J. : Vascular smooth muscle cell hypertrophy vs. hyperplasia. Autocrine transforming growth factor- β expression determines growth response to angiotensin II. *J. Clin. Invest.* 90 : 456-461, 1992.
 - 8) Iida H., Seifert R. A., Alpers C. E., Gronwald R. G. K., Phillips P. E., Pritzl P., Gordon K., Gown A. M., Ross R., Bowen-Pope D. F. and Johnson R. J. : Platelet-driven growth factor (PDGF) and PDGF receptor are induced in mesangial proliferative nephritis in the rat. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 : 6560-6564, 1991.
 - 9) Floege J., Burns M. W., Alpers C. E., Yoshimura A., Pritzl P., Gordon K., Seifert R. A., Bowen-Pope D. F., Couser W. G. and Johnson R. J. : Glomerular cell proliferation and PDGF expression precede glomerulosclerosis in the remnant kidney model. *Kidney Int.* 41 : 297-309, 1992.
 - 10) Tanaka R., Sugihara K., Tatematsu A. and Fogo A. : Internephron heterogeneity of growth factors and sclerosis - modulation of platelet derived growth factor by angiotensin II. *Kidney Int.* (in press).
 - 11) Raij L., Azar S., Peane W. : Mesangial immune injury, hypertension, and progressive glomerular sclerosis in the rat. *Kidney Int* 26 : 137-143, 1984.