実験腎炎における糸球体マトリックスメタロ プロテイナーゼ活性の変動

服部智久・進藤省一郎・藤塚直樹・日比野智子・寺園芳樹・
古泉素明・黒木亮子・佐藤俊次・遠藤 徹・丸野政雄*

Changes in matrix metalloproteinase activities in glomeruli of experimental glomerulonephritis

The purpose of this study was to investigate the changes in matrix accumulation, matrix metalloproteinase (MMP) activities and tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) expression in glomeruli of anti-GBM and anti-Thy-1 nephritic rats. In glomeruli of anti-GBM nephritic rats, an increase in fibrous crescent was observed from day 20 to day 35. The activities of MMP 1, 2 and 9 significantly decreased in glomeruli of anti-GBM nephritic rats from day 1 to day 35. TIMP expression in mesangial area of anti-GBM nephritic rats increased rapidly from the 1st day with a peak of day 10. In addition, TIMP expression in crescent also increased by day 15 and more sustained increase until day 35. Mesangial matrix increased in glomeruli of anti-Thy-1 nephritic rats with a peak of day 8 and rapidly decreased to the normal level by day 30. The activities of MMPs in glomeruli of anti-Thy-1 nephritic rats showed little change during the experimental periods. Although TIMP expression in anti-Thy-1 nephritic rats increased from day 1 to day 8, then this expression decreased rapidly to the normal level by day 16. Trypsin-treated glomeruli of anti-GBM nephritic rats had a 12-fold increase in MMPs activities at day 5.

These results suggest that the maintained decline of MMPs activities in nephritic rats may be associated with the process of glomerulosclerosis.

Rec. 7/18/1995, Acc. 9/12/1995, pp 467~474

*Tomohisa Hattori · Shoichiro Shindo · Naoki Fujitsuka · Tomoko Hibino ·
Motoaki Koizumi · Akiko Kurogi · Toshitsugu Sato · Toru Endo · Masao Maruno**

key words : GBM, nephritis, metalloproteinase, Thy-1, TIMP

糸球体腎炎が進展する過程で生じる糸球体の線維化は、組織学的に腎不全のおもな特徴とされる腎硬化を引き起こすもっとも重要な因子であることが知られている。この糸球体の線維化は、主としてコラーゲンをはじめとする細胞外マトリックスの蓄積が要因となっており、臨床的あるいは実験的な糸球体腎炎においてマトリックス蛋白の過

剰合成が認められている¹⁻⁶⁾

一方、腎疾患と同様に慢性的な経過を辿る慢性関節リウマチ患者、あるいは実験的な関節炎モデルにおいて、synovial 液中の細胞外マトリックス分解酵素の一つである matrix metalloproteinase (MMP) 活性の亢進が報告されてきており^{7,8)}、マトリックス分解が異常に亢進していることが示されている。同様に、腎疾患ラットの糸球体においても、MMP の m-RNA の増加が認められているものの、逆に糸球体にマトリックスの蓄積が認められる。同時にそのインヒビターである tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) の m-RNA も亢進しており^{9,10)}、腎疾患

* New Drug Research Department, Institute of New Drug Research, Tsumura Central Laboratories, Tsumura & Co. 株式会社ツムラ・中央研究所、創薬研究所、第一創薬研究部探索1グループ
Offprint requests to: Tomohisa Hattori, New Drug Research Department, Institute of New Drug Research, Tsumura Central Laboratories, Tsumura & Co. 3586 Yoshiwara, Ami-cho, Inashiki-gun, Ibaragi 300-11, Japan

の進展過程において糸球体マトリックスの代謝調節に異常をきたしていることが推測されるが、実際には十分な検討が行われていない。

今回は、2種類の実験腎炎モデルを用いてマトリックスの代謝酵素である MMP の活性を測定することにより、マトリックス代謝系の変化について検討した。

方 法

(1) 実験動物

体重 170~190 g 雄性 Sprague-Dawley 系ラット (日本チャールスリバー) を用いた。

(2) 腎炎惹起

抗 GBM 腎炎の惹起は、ラットに抗ラット GBM ウサギ血清 0.75 ml を尾静脈より処置し、その翌日ウサギ γ グロブリンの 6.5 mg/rat を注射用生理食塩水に溶かし、同量のプロイント完全アジュバントとともに乳化し、両後肢足蹠皮内に投与した。抗 Thy-1 腎炎の惹起は、ラットに抗胸腺細胞ウサギ血清 0.1 ml を尾静脈より投与し、その1時間後正常ウサギ血清 1.0 ml を同様に尾静脈から処置した。

(3) 実験プロトコール

抗 GBM 腎炎の場合は、抗 GBM 血清処置日を0日として、1, 5, 10, 15, 20, 25, 35 日目にそれぞれ採尿し、右腎を摘出した。抗 Thy-1 腎炎の場合は抗 Thy-1 血清処置日より、2, 4, 8, 12, 16, 23, 30 日目に右腎を摘出した。

(4) 糸球体単離と MMP 活性

腎臓を摘出後、篩い法によって糸球体を単離した。さらに血清無添加 RPMI 1640 培地にて4時間インキュベートし、その上清をサンプルとした。MMP 活性は、IV および I 型コラゲナーゼ活性測定キット (株式会社ヤガイ) を用いて比活性を測定した。なお、活性は正常を 100 とした場合の%であらわした。さらに、糸球体における MMP 前駆体をトリプシン処置することにより活性型に変換させ、総活性を測定した。つまり、糸球体懸濁サンプル 100 μ l 当たり 10 μ g のトリプシンを加え、37°C で4時間インキュベートし、その後5倍量のトリプシンインヒビターを加え、反応をス

図1 抗 GBM 腎炎ラットにおける半月体形成 (○) と線維化半月体 (●) の経日的変化

各群5匹の mean $\pm$ SE で示した。半月体形成に関しては本文中の基準に従って血管極を有する50個の糸球体を任意に選び、その発症率を算出した。同様に線維化糸球体は、マッソントリクロム染色により青紺色を示した半月体を有する糸球体のみカウントした。正常群では半月体が認められなかったため図のなかには示していない。

図2 抗 Thy-1 腎炎ラットメサンギウムにおけるマトリックスインデックスの経日的変化

各群5匹の mean $\pm$ SE であらわした。メサンギウムにおけるマトリックスインデックスは、本文中の基準に従って血管極を有する50個の糸球体を任意に選び、病態の程度によりグレードわけした。抗 Thy-1 血清処置後8日目にピークを示したが、その後急速に低下した。

トップさせた。測定はその上清をサンプルとした。

(5) 腎組織の病理標本の作製と免疫酵素抗体法

腎組織を冷 10%ホルマリン緩衝液で固定後、0.5 M Tris 塩酸緩衝液 (pH 7.5) で希釈したアルコール系列で脱水し、ベンゼン系列をへてパラフィン中に包埋した。パラフィン切片作製後、マッソントリクロム染色ならびに過ヨウ素酸メテナミン銀染色 (PAM 染色) を施し、半月体やメサンギウム領域の線維化の計測に用いた。同時に TIMP (富士薬品工業) のモノクローナル抗体を使用し、

図3 抗GBM腎炎ラットにおける糸球体MMP活性の変化

各群5匹のmean±SEであらわした。上段の(a)はMMP-2,9,下段の(b)はMMP-1活性を示している。それぞれ正常値に対する割合(%)で示した。両活性とも抗血清処置後1日目で急速に低下し、その後もその低下が持続した。*ならびに**は正常値との有意差(危険率0.05ないし0.01以下)を示している。

図4 抗Thy-1腎炎ラットにおける糸球体MMP活性の変化

各群5匹のmean±SEであらわした。上段の(a)はMMP-2,9,下段の(b)はMMP-1活性を示している。それぞれ正常値に対する割合で示した。両活性ともいじりしい変化は見られなかったが、抗血清処置後30日目に一過性に低下した。*は正常値との有意差(危険率0.05以下)を示している。

ABC Elite-peroxidase kit(Vector 社)を用いて酵素抗体法にて糸球体の局在を検討した。

(6) 組織学的評価

半月体形成に対する発症率算出は鈴木らの方法¹¹⁾に準じて行った。つまり、発症率は50個の糸球体を任意に選びその発現率であらわした。また、線維化した糸球体は、マッソントリクロム染色で青紺色に染まった糸球体を線維化糸球体として、同様に50個中の発症率であらわした。また、糸球体におけるマトリックスの拡大についてPAM染色を施した糸球体を観察し、以下のような方法で指数化した。TIMP発現ならびにマトリックスインデックスは、Kagamiらの方法¹²⁾に準じて行った。

0点：染色部位がdiffuseで弱い、まったくないもの

1点：糸球体係蹄の1～25%が染色されるもの

2点：糸球体係蹄の50～75%が染色されるもの

3点：糸球体係蹄の75～80%が染色されるもの

(7) 統計学的処理

実験結果の数値は平均値標準誤差であらわし、平均値間の有意差検定はStudent's *t* testを用いて検討した。

結果

(1) 抗GBM腎炎ラットにおける半月体形成と線維化した半月体形成の経日的変化

抗GBM腎炎ラットにおける糸球体半月体形成は、腎炎惹起後5日目から発現し、経日的に増加した。

20日目までは、大半の半月体が細胞性であったが、その後急速に線維化した半月体の発現が増加した(図1)。

図5 5日目のメサンギウム TIMP 発現を示した写真
(A)は正常群を、(B)は腎炎群をそれぞれ示している。腎炎対照群ではメサンギウムあるいは内皮細胞に沿った TIMP 陽性部位が明確に認められるが、正常群では低い発現が観察された。

(2) 抗 Thy-1 腎炎ラットにおけるメサンギウム領域のマトリックスインデックスの経日的変化

抗 Thy-1 腎炎ラットでは、2日目には主としてメサンギウム融解による基質減少が観察されたが(データは示していない)、その後、8日目をピークとしたメサンギウム領域のマトリックスインデックスの増加が見られ、以後急速に減少した(図2)。

(3) 抗 GBM 腎炎ラットの糸球体 MMP 活性の変化

図3aのグラフに示したように、MMP-2, 9 活性は、抗 GBM 血清処置後1日で急速に低下し、その後、10日目から35日目まで正常値の20~40%の値を維持した。一方、図3bに示したように MMP-1 活性も抗血清処置後、急速に低下し、10日目には少し回復したものの、25日目まで低値を維持した(図3)。

(4) 抗 Thy-1 腎炎ラットの糸球体 MMP 活性の変化

抗 Thy-1 腎炎においては MMP-2, 9 ならびに

MMP-1 活性は30日目にそれぞれ低値を示したものの、実験期間を通じていちじるしい変化は見られなかった(図4)。

(5) 抗 GBM 腎炎ラットのメサンギウム領域ならびに半月体部位 TIMP 発現インデックスの変化

図5に5日目の正常ラットならびに抗 GBM 腎炎ラットにおける抗 TIMP 抗体を用いた免疫染色の写真を示した。正常糸球体(図5A)における TIMP 陽性領域はほとんどが痕跡程度であったのに対して、腎炎ラット(図5B)においては、係蹄壁やメサンギウム領域に TIMP 陽性部位が明らかに増加していた。図5と同様に図6に35日目の正常ラットならびに抗 GBM 腎炎ラットの糸球体における抗 TIMP 抗体での免疫染色の写真を示した。正常糸球体(図6A)では半月体自身を発症しておらず、ボウマン氏囊上皮においても陰性であった。これに対して、抗 GBM 腎炎ラット(図6B)の糸球体では半月体部位にいちじるしい TIMP 発現が見られた。

以上の所見を図7にインデックスとしてまとめ

図 6 35日目の半月体 TIMP 発現を示した写真

(A)は正常群, (B)は腎炎群をそれぞれ示している. 腎炎対照群では半月体に沿った TIMP 陽性部位が明確に認められるが, 正常群ではその発現がまったくないことが示された.

図 7 抗 GBM 腎炎ラットのメサンギウム領域 (●)TIMP ならびに半月体 (■)TIMP の経日の変化

各群 5 匹の mean±SE であらわし, 正常は (○) で示した. メサンギウム TIMP は 5 日目まで増加し, 15 日目からは半月体 TIMP の増加と交代するかのよう低下した. 半月体 TIMP はその後も経日的に増加した. * ならびに ** は正常値との有意差 (危険率 0.05 ないし 0.01 以下) を示している.

た. 腎炎群ではメサンギウム領域の TIMP が 10 日目まで増加し, ゆっくりと低下したが, 35 日目まで有意なインデックスの増加が認められた. これに対して半月体部位における TIMP 陽性領域

図 8 抗 Thy-1 腎炎ラットのメサンギウム領域 TIMP の経日の変化

各群 5 匹の mean±SE であらわし, 正常は (○), 腎炎群は (●) で示した. メサンギウム TIMP は 8 日目をピークとして増加し, その後, 急速に低下した. 半月体 TIMP は認められなかった. * ならびに ** は正常値との有意差 (危険率 0.05 ないし 0.01 以下) を示している.

は, 15 日目から増加が見られ, その後も経日的に増加した.

(6) 抗 Thy-1 腎炎ラットの糸球体メサンギウム領域 TIMP 発現インデックスの変化

8 日目をピークとして抗 Thy-1 腎炎ラットの

図9 抗GBM腎炎ラットのトリプシン処置糸球体におけるMMP-2,9活性(総MMP-2,9活性)の変化

糸球体懸濁サンプル 100 μ l 当たり 10 μ g のトリプシンを加え、37°Cで4時間インキュベートし、その後5倍量のトリプシンインヒビターを加えた。測定はその上清をサンプルとした。活性は1日目から5日目にかけていちじるしく亢進し、特に5日目は正常値の12倍もの値となった。その後急速に低下したが、20日目にはまた有意な亢進が認められた。

メサンギウム領域でのTIMP陽性部位は増加したが、その後急速に低下し、再び30日目にはわずかに増加した(図8)。

(7) 抗GBM腎炎ラットのトリプシン処置糸球体MMP-2,9活性の変化

抗GBM腎炎ラットの糸球体MMP-2,9活性は、トリプシン処置により1日目から5日目にかけていちじるしく亢進し、特に5日目は正常値の12倍もの値となった。その後急速に正常値近くまで低下したが、20日目にはまた有意な亢進が認められた(図9)。

考 察

糸球体は、細胞と細胞外マトリックスによって構成されているが、後者のなかでもコラーゲンやヘパラン硫酸プロテオグリカン類は、おもな糸球体構成成分であるばかりではなく、GBMのsizeないしはcharge selective barrierとしても働き、糸球体機能維持にも重要な役割を担っている。しかしながら、糸球体疾患の進展に伴い、これらのマトリックスは逆に糸球体細胞に過剰に蓄積することにより線維化し、毛細血管やボウマン氏嚢腔の閉塞を招くことから、不可逆性の糸球体機能低下を引き起こすとされている。さらに過剰に蓄積

したマトリックスが、次第に糸球体硬化に移行すると、腎機能自体に破綻をきたし、最終的には腎不全へ移行すると考えられている。

この糸球体における細胞外マトリックス蓄積のおもな要因は、マトリックス蛋白の合成増加と考えられているが、マトリックスの代謝に関与するMMPとそのインヒビターであるTIMPの糸球体におけるm-RNAの増加が報告されており^{1,7,9)}、マトリックスの過剰合成と同時に代謝異常も生じている可能性が示唆されている。しかしながら、両蛋白の合成が亢進しており、実際のマトリックスの代謝が亢進、低下のどちらに移行しているのかは明確にされていない。

今回の実験結果では、進行性の腎炎モデルである抗GBM腎炎ラットにおける糸球体MMP活性は、腎炎発症後いちじるしく低下し、実験期間を通じてその低下が維持された。これに対して急性腎炎モデルである抗Thy-1腎炎ラットでは、統計学的には有意ではないが、腎炎発症後、逆にMMP活性は亢進する傾向を示し、実験最終日の30日目において低下した。これらのことは、腎炎の進行過程におけるMMPの制御が両モデルでまったく異なっていることを示唆しており、進行性の腎炎においてMMP活性の持続的な低下は、糸球体でのマトリックス合成亢進と重なって、さらに強烈なマトリックス蓄積に導くものと考えられた。また、抗Thy-1腎炎の場合には、MMPの持続的な低下を維持するような因子が働いておらず、むしろMMPはマトリックスの急激な増加をこれ以上進めないように働いていると考えられ、実験最終日における低下も、MMP活性が正常値を保てるように維持されつづけたことによるリバウンド的な意味合いが濃いのではないかと推測できる。

MMP活性は、主としてそのインヒビターによって調節されており、そのなかでもTIMPはMMPとcomplexを形成し、その活性を低下させることが知られている。上記のようにMMPの蛋白合成が亢進しているという報告^{1,7)}にもかかわらず、活性自体が低下していた結果から、酵素の活性を抑制する因子の作用がより強力であった

ことを示唆している。抗 GBM 腎炎において、糸球体の TIMP 発現はメサンギウム領域で増加し、半月体の形成に引き続いて、半月体部位でもその発現が亢進した。さらに、半月体での TIMP 発現は、線維性半月体の出現よりも先行して生じた。また、抗 Thy-1 腎炎ラットでも糸球体の TIMP の発現は亢進したが、メサンギウムのマトリックスインデックスの低下とともに TIMP 発現も減少した。

これらのことから、抗 GBM 腎炎ラットの糸球体における MMP 活性の持続した低下は、メサンギウム細胞につづいて半月体形成部位での TIMP 発現が重要な役割を演じていると考えられた。糸球体に形成された半月体は線維化することによって不可逆化し、その病態予後の経過を悪化させることが知られていることから、腎炎の進展には糸球体細胞のみならず、管外部位におけるマトリックス蓄積が重要な因子であると考えられている。

半月体は、基底膜の断列によって漏出した炎症細胞がボウマン嚢上皮や係蹄上皮に蓄積あるいは増殖因子を放出して形成される。抗 Thy-1 腎炎においても一部の糸球体は半月体形成を伴うにもかかわらず(未発表データ)、その後急速に半月体は消失し、糸球体は正常化に移行することから考えても、抗 Thy-1 腎炎では観察されなかった管外部位における TIMP 発現の亢進が、形成された半月体の不可逆化につながり、糸球体の過剰な線維化に移行するものと推測された。

不活性型 MMP から活性型 MMP に転換することにより、腎炎ラットの糸球体において、TIMP などのインヒビターの影響を除外した場合の活性(総 MMP 活性)について検討した。トリプシン処置した糸球体の MMP-2、9 活性は特に 1～5 日目でいちじるしく亢進し、その後も 20 日目に一過性に亢進した。初期には MMP が糸球体細胞ばかりでなく常在性のマクロファージや浸潤した炎症細胞自体によっても供給、産生されると考えられる。しかしながら、この時期(1～5 日)には活性型 MMP 活性はいちじるしく低下しており、実際に糸球体の内皮細胞や基底膜の障害はあるもの

の、メサンギウムや上皮細胞などの形態は比較的正常に維持されている。つまり、TIMP などの活性阻害因子の産生亢進が生じることによって活性型 MMP への転換が抑制されていることが、糸球体の過剰な自己融解を阻止するように働いていると推察された。

また、今回の実験では、抗血清処置 24 時間後(1 日目)からの測定であり、抗血清処置後数時間での MMP 活性の測定は行っていない。すでに抗血清処置後 6 時間目から尿蛋白が漏出し、形態学的にも基底膜や内皮の障害がある(データ未発表)以上、抗血清処置後数時間ではむしろ総 MMP と活性型 MMP の両活性が亢進しているのではないかと推測され、それが引き金となって TIMP などの阻害因子が産生されるものと考えられた。

一方、20 日目以降になると、糸球体由来の総 MMP 活性は正常値近くまで低下した。このことは炎症細胞の数における低下や糸球体の線維化が亢進するにしたがって、糸球体構成細胞自体も消失、あるいは機能を損ない、MMP 蛋白の合成能力が低下している¹³⁾ことなどが推測された。しかし、依然活性型の MMP 活性はさらに低下しており、前駆体 MMP から活性型 MMP への転換が持続的に低下していることが示された。一方、10 日目以後トリプシン未処理の活性型 MMP は、5 日目までとくらべ若干活性は高くなってきている。この時期に糸球体 TIMP 発現が持続的に亢進していることから、MMP 活性の制御に TIMP と MMP との親和性の変化などの量的なバランス以外の要因が関与する可能性を示唆している。

MMP と TIMP の量的なバランスは、TGF- β 1 によって調節されていることが知られている^{14,15)}。つまり、TGF- β 1 はマトリックス蛋白の合成亢進に加え、MMP の合成を抑制し、逆に TIMP の合成を亢進することにより細胞外マトリックスを蓄積する方向に働く。抗 GBM 腎炎ラットの糸球体を用いた実験から TGF- β 1 の蛋白産生は、惹起後数時間で亢進することが報告¹⁶⁾されており、筆者らもマウス抗 GBM 腎炎において糸球体の TGF- β 1 の産生が持続的に亢進していることを認めた(データ未発表)。

これらの知見から、TGF- β 1 は、今回の実験における持続的な MMP 活性の低下と TIMP 発現亢進の引き金となっていることが推測された。つまり、抗血清処置に生じる糸球体基底膜上免疫複合体形成に伴い、貪食系細胞である炎症細胞やメサングウム細胞などが MMP を産生する。しかし、実際にはこの刺激に反応して糸球体構成細胞で産生された TGF- β 1 などのサイトカインを急速に産生し、また、TIMP や他の活性阻害因子を発現、放出して、過剰な糸球体の形態破綻を阻止すると考えられる。また、繰り返しの免疫反応の亢進など、急性腎炎では生じない何らかの要因で持続的に TGF- β 1 などのサイトカイン産生が起こり、マトリックス蛋白の合成亢進や MMP の低下維持を生じて、糸球体の線維化が亢進し、さらにこの線維化による MMP 産生細胞自体の機能低下や消失も加わって、糸球体のマトリックス蓄積がさらに進行していくものと推察された。

文 献

- 1) Floege, J., Johnson, R. J., Gordon, K., Iida, H., Pritzl, P. et al.: Increased synthesis of extracellular matrix in mesangial proliferative nephritis. *Kidney Int.* 40: 447-488, 1991.
- 2) Jones, C. L., Buch, S., Post, M., McCulloch, L., Liu, E., Eddy, A. A.: Pathogenesis of interstitial fibrosis in chronic purine aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int.* 40: 1020-1031, 1991.
- 3) Floege, J., Johnson, R. J., Gordon, K., Yoshimura, A., Campbell, C. et al.: Altered glomerular extracellular matrix synthesis in experimental membranous nephropathy. *Kidney Int.* 42: 573-585, 1992.
- 4) Jones, C. L., Buch, S., Post, M., McCulloch, A., Liu, E., Eddy, A. A.: Renal extracellular matrix accumulation in acute puromycin aminonucleoside nephrosis in rats. *Am. J. Pathol.* 141: 1381-1396, 1992.
- 5) Nakamura, T., Ebihara, I., Fukui, M., Tomino, Y., Koide, H.: Effects of methylprednisolone on glomerular and medullary mRNA levels for extracellular matrix in puromycin aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int.* 40: 874-881, 1991.
- 6) Ikeda, S., Makino, H., Ota, Z.: Alterations in glomerular matrix components in glomerulonephritis. *Japan. J. Nephrol.* 35: 941-947, 1993.
- 7) Clark, I. M., Powell, L. K., Ramsey, S., Hazleman, B. L., Cawston, T. E.: The measurement of collagenase, tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP), and collagenase-TIMP complex in synovial fluids from patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 36: 372-379, 1993.
- 8) Terato, K., Hashida, R., Miyamoto, K., Morimoto, T., Kato, Y. et al.: Histological immunological and biochemical studies on type II collagen-arthritis in rats. *Biomed. Res.* 3: 495-505, 1982.
- 9) 中村 司, 長田しをり, 海老原 功, 富野康己, 小出 輝: ステロイド投与による NZB/WF1 マウス腎における MMP, TIMP m-RNA 発現への影響. *日腎誌* 36: 608, 1994.
- 10) Lovett, D. H., Johnson, R. T., Marti, H. P., Martin, J., Davies, M., Couser, W. G.: Structural characterization of mesangial cell type IV collagenase and enhanced expression in a model of immune complex glomerulonephritis. *Am. J. Pathol.* 141: 85-98, 1992.
- 11) Hattori, T., Ito, M., Nagamatsu, T., Suzuki, Y.: Studies on antinephritic effect of TJ-8014, a new Japanese herbal medicine (3): Effects on crescentic-type anti-GBM nephritis in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 52: 131-140, 1990.
- 12) Kagami, S., Border, W. A., Ruslahti, E., Noble, B.: Coordinated expression of β integrins and transforming growth factor- β induced matrix proteins in glomerulonephritis. *Lab Invest.* 69: 68-76, 1993.
- 13) 友杉直之, 和田隆志, 小林健一: 培養メサングウム細胞と metalloproteinase. *日腎誌* 36(Suppl.): 420, 1994.
- 14) Kitahara, M., Maruyama, N., Mitarai, T., Nagasawa, R., Yoshida, H., Sakai, O.: Extracellular matrix contraction by cultured mesangial cells: Modulation by transforming growth factor- β and matrix components. *Exp. Mol. Pathol.* 56: 132-143, 1992.
- 15) Nakamura, T., Miller, D., Ruoslahti, E., Border, W. A.: Production of extracellular matrix by glomerular epithelial cells is regulated by transforming growth factor β 1. *Kidney. Int.* 41: 1213-1221, 1992.
- 16) 藤中秀彦, 山本 格, 川崎克俊, 矢尾坂永信, 所之雄・他: 半月体形成性腎炎モデルにおけるサイトカイン増殖因子 mRNA の糸球体発現. *日腎誌* 36(Suppl.): 105, 1994.