

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	長谷川 絵理子
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 859 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	腎糸球体上皮細胞 (ポドサイト) 機能維持におけるスフィンゴシン 1 リン酸受容体シグナルの役割—フィンゴリモドのポドサイト保護作用についての検討—
論文審査委員	主査 教授 神吉 智丈 副査 准教授 福住 好恭 副査 教授 成田 一衛

### 博士論文の要旨

背景 : Sphingosine 1-phosphate (S1P)は多彩な生理活性をもつ脂質メディエーターである。S1P receptor (S1PR)は広汎な臓器に発現しており、S1P-S1PR シグナルは各臓器で細胞の生存、増殖、移動、細胞骨格再構築、細胞間接着など多くの細胞プロセスの制御における効果が報告されている。S1PR はサブタイプ 1,2,3,4,5 の 5 種類が存在し、それぞれ臓器分布や下流のシグナルに特徴をもち、受容体サブタイプの機能や分布の違いが S1P の多彩な生理作用につながっている。腎糸球体上皮細胞 (ポドサイト) は糸球体の構造維持、透過性制御に最も重要な役割を果たしている細胞と考えられているが、ポドサイトにおける S1P-S1PR シグナルの役割は不明である。

目的 : ポドサイトにおける S1P-S1PR シグナルの役割を解明する。

方法 : 検討 1:正常ラット腎糸球体、マウス培養ポドサイトにおける S1P 関連分子 (S1P 受容体、S1P 合成酵素、S1P 分解酵素) の mRNA 発現を検討した。検討 2:ポドサイト障害を引き起こし微小変化型ネフローゼ症候群の病態モデルとして使用される Puromycin aminonucleoside (PAN) 腎症ラット糸球体、PAN 添加培養ポドサイトにおける S1P 関連分子の発現変化を検討した。検討 3 : S1PR の機能的アンタゴニストであるフィンゴリモド (Fingolimod) の効果を PAN 腎症ラット、PAN 添加ポドサイトにおいて検討した。PAN 腎症ラットでは尿蛋白量、糸球体スリット膜関連分子の発現に与える影響を検討し、PAN 添加ポドサイトではポドサイトアクチン骨格に与える影響を検討した。

結果 : 検討 1:S1P の合成酵素である sphingosine kinase (SK) 1, S1P の分解酵素である S1P phosphatase 1, 2, S1P lyase, S1PR1, 2, 3, 4, 5 の mRNA 発現が正常ラット腎糸球体で観察された。マウス培養ポドサイトでは S1PR5 以外の S1P 関連分子の mRNA 発現が観察された。未分化な状態の培養ポドサイトに比して、分化した状態の培養ポドサイトでは S1PR3,4 の発現が優位であった。検討 2:培養ポドサイトに PAN を添加した系で S1PR3,4、SK1 の mRNA 発現が亢進した。ラット PAN 誘導腎症の糸球体では S1PR3,4 の発現亢進が観察された。検討 3: PAN 腎症ラットに Fingolimod を投与すると蛋白尿が有意に減少し、同モデルで観察されるポドサイト機能分子 (ネフリン、ポドシン) の発現低下が抑制された。PAN 添加培養ポドサイトで観察されるアクチンフィラメントの染色性の変化が Fingolimod 処理により軽減されることを観察した。Rho シグナルの下流に位置するリン酸化酵素である ROCK1 (Rho-associated coiled-coil containing

protein kinase 1) の mRNA は正常培養ポドサイトではほとんど検出されなかった。PAN 添加培養ポドサイトでは ROCK1 の mRNA 発現は亢進したが、Fingolimod 前処理により ROCK1 の mRNA 発現亢進は抑制された。

考察と結論：マウス培養ポドサイトでは S1PR5 の発現が少なく、S1PR3,4 の発現が優位であり、特に未分化な状態から分化ポドサイトになる過程で S1PR3,4 の発現が優位となっており、この特徴的なポドサイトにおける S1PR 発現パターンがスリット膜などポドサイトの特異的な機能維持に関わっている可能性があると考えられた。微小変化型ネフローゼ症候群の病態モデルを誘導する薬剤である PAN 処理により S1PR3,4 の発現亢進がみられたこと、S1PR の機能的アンタゴニストである Fingolimod により PAN 腎症の蛋白尿抑制効果とスリット膜関連分子の保護効果があったことから、微小変化型ネフローゼ症候群の病態形成に S1PR3,4 を介したシグナルが関与している可能性が示唆された。Rho-ROCK 系は S1PR3,4 に結合する G 蛋白である G12/13 シグナルの下流に位置するエフェクターの一つであり、細胞骨格の調節に働く作用が報告されている。Fingolimod は PAN 腎症で亢進する S1PR3,4 のシグナル亢進を阻害することで、Rho-ROCK 系の過剰な亢進を抑制し、アクチン細胞骨格の維持効果からスリット膜の保護効果につながっている可能性が考えられる。本研究は Fingolimod が微小変化型ネフローゼ症候群の治療薬として有用な可能性があることを示した。

#### 審査結果の要旨

Sphingosine 1-phosphate(S1P)は多彩な生理活性を有する脂質メディエーターであるが、腎糸球体ポドサイトにおける S1P-S1PR (S1P 受容体) シグナルの生理的、ならびに病的な意義は不明である。そこで申請者は正常ラット糸球体、マウス培養ポドサイトを用いた S1P 関連分子の発現解析、PAN 腎症モデルでの S1P 発現変化の解析、そして S1PR アンタゴニストである Fingolimod の効果解析を行った。本論文により、初めて糸球体ポドサイトにおける S1P 関連分子の発現が明らかにされ、それがスリット膜の機能維持に重要である可能性が示された。特に微小変化型ネフローゼ症候群の病態形成に S1PR3, 4 を介したシグナルが関与し、Fingolimod によりその S1PR3, 4 のシグナルを阻害することで Rho-ROCK 系の過剰発現を抑制することがスリット膜構造の保護効果に繋がる可能性が示された。

以上、本論文は糸球体ポドサイトにおける S1P-S1PR 系の意義を明らかにし、ヒト微小変化型ネフローゼ症候群の治療ターゲットとなる可能性を示した点に、博士論文としての価値を認める。