

氏 名	つばた ゆたか 津 畑 豊
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第149号
学位授与の日付	平成19年 3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	Expression of allograft inflammatory factor-1 in kidneys:a novel molecular component of podocyte (腎における新規ポドサイト構成分子 allograft inflammatory factor-1 の発現)

論文審査委員	主査	教授	追 手	巍
	副査	教授	下 條	文 武
	副査	教授	山 本	格

博士論文の要旨

申請者はラット抗糸球体基底膜抗体腎炎モデルの腎臓での遺伝子発現パターンを DNA アレイを用いて調べ、Allograft inflammatory factor-1(AIF-1)が、通常ラットの腎臓に比べ、強く発現(3 倍)していることを見いだした。AIF-1 は、種を超えて保存されているカルシウム結合蛋白であり、人間では HLA のクラス3遺伝子部位にエンコードされている。その発現は様々な炎症の過程に関連していることが報告されており、慢性拒絶反応を起こしている心臓に浸潤するマクロファージにおける発現の報告に始まり、現在までに自己免疫性神経炎モデルの脳組織や傷害骨格筋、糖尿病ラットの膵臓、拒絶反応下の移植腎の間質などに浸潤するマクロファージにその発現が確認されている。また、小グリア細胞や、活性化された T リンパ球、傷害平滑筋細胞、樹状細胞、クッパー細胞、マウスの子宮などにも AIF-1 の発現が報告されている。しかし、現在まで、糸球体腎炎の腎組織における AIF-1 の発現については、報告がされていなかった。

そこで、今回、我々は AIF-1 が腎臓において、どのような発現パターンを呈するのか調べた。まず、DNA アレイの結果を確認するため、AIF-1 の mRNA が通常ラットの腎組織に比し、抗糸球体基底膜抗体腎炎ラットの腎組織において増加していることをノーザンブロット法で確認した。次に、AIF-1 の mRNA および蛋白の発現パターンを、通常ラットおよび、抗糸球体基底膜抗体腎炎モデルラット、PAN 腎症ラットの腎臓を用いて、in situ hybridization、二重染色を含めた免疫組織化学法、免疫電顕法で確認し、さらに、人間の腎組織および尿沈渣における AIF-1 の発現についても調べた。AIF-1 は通常ラットおよび疾患モデルラットにおいて、mRNA、蛋白レベルで糸球体上皮細胞(ポドサイト)および抗糸球体基底膜抗体腎炎モデルラットの間質浸潤細胞に発現していた。ポドサイトにおける AIF-1 の発現は通常および病的ラットの腎臓の両方で恒常的に認められた。また同様に、人の移植腎(移植前および拒絶反応時)のポドサイトおよび間質浸潤細胞においても AIF-1 の発現を確認した。さらに、5 名の IgA 腎症患者の尿沈渣においても AIF-1 の発現を確認した。

現在までに腎臓間質浸潤細胞での AIF-1 の発現については、人の移植後拒絶反応下の腎臓において報告がなされているが、ポドサイトにおける AIF-1 の発現については報告がなかった。ポドサイトは糸球体基底膜の表面に位置する非常に高度分化した上皮細胞である。最近の研究により、ポドサイトの傷害が腎疾患進行の開始や末期腎不全への進行に関わっていることが明らかになってきており、腎疾患の解明のために、ポドサイトの機能やその構成分子などの研究が盛んに行われている。今回、我々は、AIF-1 が新しいポドサイトの構成分子の一つであることを初めて報告した。免疫電顕法による AIF-1 の局在確認では、ポドサイトの細胞質にびまん性に存在しており、ポドサイトの機能上、重要と考えられているフットプロセス部に局在しているわけではなかった。

近年、腎疾患患者のポドサイト傷害の程度を推定する方法の一つとして、尿沈渣中のポドサイトの定量が有用であるという報告が複数されている。尿沈渣中のポドサイトを調べるためのポドサイトマーカーは複数報告されているが、腎組織中の全てのポドサイト構成分子が、尿沈渣中のポドサイトに発現しているわけではなく、現在の所、ポドカリキシンが尿沈渣ポドサイトの最も発現率のよいポドサイトマーカーとして報告されている。今回の研究において、我々は AIF-1 が IgA 腎症患者の尿沈渣中に発現していることを認め、また、ポドカリキシンとの二重染色にて、その発現がほぼ同様のパターンを示すことを確認した。尿沈渣中の AIF-1 発現がポドカリキシン同様、腎疾患患者におけるポドサイト傷害の推定に有用である可能性が考えられた。

今回の我々の研究では、ポドサイトに存在する AIF-1 の特徴や機能については明らかになっておらず、今後のさらなる研究が必要と考えられる。

(論文審査の要旨)

本研究では allograft inflammatory factor(AIF)-1 が腎臓において、どのような役割をもつかを検討した。AIF-1 の mRNA および蛋白の発現パターンを、通常のラットおよび、抗糸球体基底膜抗体腎炎モデルラット、PAN 腎症ラットの腎臓を用いて、in situ hybridization、二重染色を含めた免疫組織化学法、免疫電顕法でそれぞれ確認し、さらに、ヒトの腎組織および尿沈渣における AIF-1 の発現についても検討した。AIF-1 は通常ラットおよび疾患モデルラットにおいて、mRNA、蛋白レベルで糸球体足細胞および間質浸潤細胞に発現していた。糸球体足細胞における AIF-1 の発現は通常および病的ラットの腎臓の両方で恒常的に認められた。また同様に、ヒト移植腎の糸球体足細胞および間質浸潤細胞においても AIF-1 の発現を確認した。さらに、IgA 腎症患者(n=5)の尿沈渣中糸球体足細胞および炎症細胞に AIF-1 が発現していることを明らかにした。

以上、AIF-1 がラットおよびヒトの糸球体足細胞構成分子であることを初めて明らかにしたこと、および尿沈渣中の糸球体足細胞のマーカーとして AIF-1 が有用であることを明らかにした点に、本研究の学位論文としての価値を認める。