

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	羽深 将人
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 658 号
学位授与の日付	平成 27 年 9 月 24 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	The Kidney Transcriptome and Proteome Defined by Transcriptomics and Antibody-Based Profiling (トランスクリプトームと抗体プロテオーム解析による腎臓トランスクリプトミクスとプロテオミクス)
論文審査委員	主査 教授 河内 裕 副査 教授 成田 一衛 副査 教授 矢尾板 永信

博士論文の要旨

【目的】

腎臓の正常機能や病態生理を正確に理解するために、腎臓内に存在するタンパク質の詳細な理解が必要であり、今までに重要な役割をなす遺伝子やタンパク質が多数報告されてきた。さらに最近の質量分析計やデータベースの発展により、それらの網羅的解析が可能となってきている。一方、腎臓とその他臓器での遺伝子発現やタンパク質量を比較した報告はないが、遺伝子やタンパク質の臓器特異性の情報は、バイオマーカーの開発や創薬において重要である。そこで本研究では、腎臓を含めヒト主要臓器を用いて次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析を行い、腎臓で高発現している遺伝子を同定し、Human Protein Atlas の免疫染色データベースを用いてその遺伝子由来タンパク質のネフロン分画での局在を検討した。これにより、腎臓で特異的に発現し、かつ1つのネフロン分画に特異的に局在する遺伝子・タンパク質リストを作成することを目的とした。

【方法】

腎臓を含め 27 臓器のヒト正常臓器を用いて解析を行った。RNA シーケンサーにより各臓器内でのヒト全遺伝子の発現量を数値化し、腎臓での発現量とその他臓器での発現量を比較し全遺伝子を発現特異度に基づいて 7 つのカテゴリーに分類した (Highly enriched, moderately enriched, group enriched, enhanced, expressed in all, not expressed in kidney, and not expressed in all)。分類された腎臓特異的遺伝子由来タンパク質を Human Protein Atlas の免疫染色データベースを用いて糸球体、近位尿細管、遠位尿細管、集合管の 4 つのおおまかなネフロン構成要素での局在を調べ、どれか 1 つのネフロン構成要素のみで染まっているタンパク質をネフロン特異的タンパク質として特定した。さらにこの腎臓特異的遺伝子、タンパク質の腎臓発現について、今までの報告があるか文献検索を行った。

【結果】

全遺伝子のほぼ半数は全臓器で発現していた。一方で 387 遺伝子は腎臓での発現量が高値だった。腎臓での総 mRNA 分子の 84%は全臓器発現遺伝子由来であり、腎臓特異的遺伝子由来はわずか 8%だった。したがって、腎臓での転写活性の多くは、代謝や細胞骨格形成など生命維持に必須な機能に関連していると推測された。Group enriched 遺伝子のうち、肝臓とグループ形成する遺伝子が最も多く、代謝機能に関連する遺伝子と考えられた。Highly enriched 遺伝子由来タンパク質のほとんどが膜タンパク質で構成されており、その多くは Solute carrier family タンパク質だった。ウロモジュリンが最も臓器特異性が高いタンパク質だった。Human Protein Atlas データベースによれば、387 の腎臓特異的遺伝子由来タンパク質のうち、149 タンパク質がネフロン構成要素のどれか 1 つに局限していた（糸球体 12、近位尿細管 120、遠位尿細管 9、集合管 8）。64 の enriched 遺伝子の文献検索の結果、16 個の遺伝子が腎臓で発現の報告はなく、本研究で新規に特定された。

【まとめ】

今回申請者らは網羅的解析により腎臓特異的遺伝子、タンパク質を同定した。これらは腎臓病のメカニズム解明に役立つだけでなく、臓器特異的な点を考慮すると、鋭敏な疾患バイオマーカーになりうると考えられる。今後はこれらを用いて障害腎組織との比較や、血液、尿サンプルを対象とした解析を行ってきたい。

審査結果の要旨

申請者らは、腎臓を含めヒト主要臓器を用いて次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析を行い、腎臓で高発現している遺伝子を同定し、Human Protein Atlas の免疫染色データベースを用いてそれらの遺伝子由来タンパク質のネフロン分画での局在を検討した。

全遺伝子のほぼ半数は全臓器で発現していた。387 遺伝子は腎臓での発現量が高値だった。腎臓での総 mRNA 分子の 84%は全臓器発現遺伝子由来であり、腎臓特異的遺伝子由来はわずか 8%だった。腎臓での転写活性の多くは、代謝や細胞骨格形成など生命維持に必須な機能に関連していると推測された。腎臓特異的遺伝子由来タンパク質のほとんどは膜タンパク質で、その多くは Solute carrier family タンパク質だった。ウロモジュリンが最も臓器特異性が高いタンパク質だった。387 の腎臓特異的遺伝子由来タンパク質のうち、149 タンパク質がネフロン構成要素のどれか 1 つに局限していた（糸球体 12、近位尿細管 120、遠位尿細管 9、集合管 8）。64 の enriched 遺伝子の文献検索の結果、16 個の遺伝子が腎臓で発現の報告はなく、本研究で新規に特定された。

申請者らが網羅的解析により同定した腎臓特異的遺伝子、タンパク質は、腎臓病のメカニズム解明に役立つだけでなく、鋭敏な疾患バイオマーカーになりうると考えられ、今後の発展が期待出来る点に博士論文としての価値を認める。