京都大学	博士（医学）	氏　名	加藤　貴史
論文題目	Proteinuria-induced chronic kidney disease in the ICGN/Oa mice with a mutation of tensin2 gene (Tensin2 遺伝子変異を伴う ICGN/Oa マウスにおけるタンパク尿を由来とする慢性腎不全)		

（論文内容の要旨）

ICGN/Oa マウスは、タンパク尿を自然発症し、低タンパク血症、高コレステロール血症、浮腫を呈するネフローゼ症候群モデルである。また、この ICGN/Oa マウスは、徐々に尿細管の再吸収機能の低下が見られる慢性腎不全のモデルとしても、病理学的解析に用いられてきた。ICGN/Oa マウスのタンパク尿発症については、原因遺伝子が特定されておらず、機序については不明であった。最近になって、tensin2 遺伝子のエクソン１８番に８塩基の欠損を認め、その欠損がタンパク尿を発症する原因として同定された。そこでまず、この８塩基の欠損を利用した PCR 法を確立し、ICGN/Oa マウスの遺伝子による分類を可能とした。蛋白尿発症の原因遺伝子とされる tensin2 は、腎臓において尿細管上皮細胞と糸球体ポドサイトにおいて発現している。ICGN/Oa ホモマウスは、１週齢においてすでにタンパク尿を発症していることが分かったが、この時、ポドサイトに特異的なタンパクである Nephrin および Synaptopodin の免疫染色を行なったところ、これらの発現は減少しており、さらにこれらのタンパクは、糸球体辺縁部分より中心部分において、顕著に減少していることが分かった。この減少傾向は５週齢になると、さらに顕著になっていた。Tensin family は、アクチンに結合し、細胞移動に機能していることから、ICGN/Oa マウスでは、tensin2 の変異によりポドサイトの足突起伸長が不十分となっていると考えられる。このため、ポドサイトのスリット膜が機能しないと考えられ、これがタンパク尿を発症している原因であると推察される。さらに、遺伝子レベルでワイルドタイプ、ヘテロタイプを同定出来るようになったため、ヘテロマウスの病変に関して解析を行なった。ホモマウスは、５週齢でネフローゼを発症し、１５週齢で BUN(Blood urea nitrogen) や血清クレアチニン値の上昇認められ、慢性腎不全を発症する。しかしながら、ワイルドタイプと比較して、ヘテロマウスには、これらのネフローゼや慢性腎不全発症の兆候が見られなかった。これらの結果は、ICGN/Oa マウスがタンパク尿及びそれに由来する慢性腎不全を発症するには、tensin2 の両アリルの変異が必須であることがわかった。さらに、慢性腎不全に至る過程を解明するために、ICGN/Oa マウスにおいて、尿細管の線維化および尿細管上皮細胞の細胞増殖やアポトーシスについて解析を行なった。５週齢におけるホモマウスの腎実質領域では、α-SMA と type I collagen の発現が上昇しており、すでに尿細管間質の線維化が起こっていることが分かる。この時、尿細管上皮細胞は顕著な細胞増殖を起こしているが、アポトーシスの上昇は確認出来なかった。１５週齢のホモマウスでは、尿細管間質の線維化はさらに顕著になっており、尿細管上皮細胞の増殖は止まっていた。この時、尿細管上皮細胞のアポトーシスは上昇していた。この傾向は、さらに腎不全が進行している２５週齢において顕著になっていた。このことから、ICGN/Oa マウスでは尿細管間質の線維化が尿細管上皮細胞のアポトーシスに先行して起こっていることが分かる。これは、傷害を受けた尿細管上皮細胞がアポトーシスを起こし、それにより生じる間隙を埋めるように尿細管間質の線維化が起こるという説とは反するもので、非常に興味深い結果であった。今回の研究により、tensin2 の両アリルの変異により、ポドサイトの足突起、スリット膜に異常が生じ、ポドサイトの濾過機能が消失することで、タンパク尿を発症することがわかった。また、このタンパク尿に由来する慢性腎不全では、尿細管上皮細胞の線維化が尿細管上皮細胞のアポトーシスに先行して生じており、間質の線維化が慢性腎不全のトリガーになり得る可能性を示唆するものである。

（論文審査の結果の要旨）

ICGN/Oa マウスは、蛋白尿を自然発症するネフローゼ症候群の、また徐々に腎機能が低下する慢性腎不全のモデルとして有用である。このマウスの原因遺伝子がテンシン tensin2 であり、コード領域の８塩基対の欠損に由来することが明らかとなっていたので、この変異を利用した PCR 法を確立し、遺伝学的な解析を可能にした。そこで、野生型との比較により腎病変を解析したところ、ホモマウスは、ネフローゼ、慢性腎不全を発症したが、ヘテロマウスでは、それらの兆候は認められなかった。また、単核球浸潤や尿細管の傷害といった組織学的な特徴もヘテロマウスには認められなかった。

さらに蛋白尿に由来する慢性腎不全の病態解析のため、ICGN/Oa マウスの組織学的な解析を詳細に行ったところ、5 週齢のホモマウスでは、平滑筋アクチン・-SMA と Ⅰ型コラーゲンの発現上昇といった尿細管間質の線維化が認められ、また尿細管上皮細胞は顕著な細胞増殖を起こしていた。しかし、アポトーシスの上昇が認められるのは、さらに尿細管間質の線維化が進行した 15 週齢からであることも分かった。

以上の結果は、ICGN/Oa マウスは tensin2 の両アレルの変異により蛋白尿を発症すること、また、この蛋白尿に由来する慢性腎不全モデルマウスでは、尿細管間質の線維化が尿細管上皮細胞のアポトーシスに先行することを初めて示唆したものである。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 21 年 1 月 28 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降