

する可能性を示し、さらにこれらに対してヒアルロン酸がその受容体である CD44 を介して活性酸素の産生、および p38MAPK のリン酸化を抑制することなどにより軟骨保護作用を発揮している可能性を示したものである。すなわちヒアルロン酸の臨床的有効性を、軟骨細胞内における情報伝達機構より明らかにしたものであり高い意義を有すると思われる。以上をふまえ、主査と副主査は規定の各種審査、ならびに博士學位論文公聴会（平成 24 年 1 月 26 日）を実施し、慎重に審査した結果、本論文は博士（医学）學位論文に値すると判断した。

氏 名	竹 村 豊
学位の種類	博 士（医学）
学位記番号	医 第 1 0 8 4 号
学位授与の日付	平 成 2 4 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	A tubulointerstitial nephritis antigen gene defect causes childhood-onset chronic renal failure (尿細管間質性腎炎惹起抗原の欠如は小児期の末期腎不全を引き起こす)
論文審査委員（主 査）	教 授 竹 村 司
（副主査）	教 授 植 村 天 受
（副主査）	教 授 佐 藤 隆 夫

論文内容の要旨

【背景】

若年性ネフロン癆 (juvenile nephronophthisis : NPH) は、小児期に末期腎不全に至る重要な腎疾患の一つである。腎嚢胞形成性疾患の代表であり、組織学的には進行性の硬化、硝子化糸球体を伴う尿細管間質性腎炎像を呈する。幼少期から10歳台までの比較的若年期に発症し、平均年齢13~14歳で末期腎不全に移行する。原因として *NPHP* 遺伝子異常によりその産物である nephrocystin 蛋白合成の異常が生じ、腎尿細管上皮の構造的・機能的障害が生じる。一方、尿細管基底膜 (TBM) に存在する human tubulointerstitial nephritis antigen 蛋白 (hTIN-ag) は、一部の尿細管間質性腎炎の標的抗原であるとともに、最近では TBM の構造維持や尿細管の発生にも重要な役割を持つことが示唆されている。我々はこれまでに、NPH 患者の TBM では、hTIN-ag の減弱や欠落があることに着目し、尿細管構造や機能の障害に hTIN-ag の異常が関与している可能性を推察した。

【目的】

現在までに NPH 発症にかかわる遺伝子として、*NPHP1*、*NPHP4*、*NPHP5* 遺伝子が同定されているが、異常を認めない症例も存在する。NPH に類似した腎組織所見を有するにも関わらず、*NPHP* 遺伝子に異常を認めなかった症例において、hTIN-ag 遺伝子 (*hTIN-ag*) と腎におけるその蛋白発現について検討することをこの研究の主題とし、病態の進行における *hTIN-ag* の役割についても検討した。

【対象】

組織学的 NPH 疑いの患者 16 例において *NPHP* (*NPHP1*、4、5) を解析した。その結果、NPH に類似した腎組織所見を有するが、これらの *NPHP* に異常を認めなかった 7 例をスクリーニングし、研究対象とした。

【方法】

腎生検組織を用いて、抗ヒト TIN-ag (H79) モノクローナル抗体を用いた hTIN-ag 蛋白と TBM の主要な構成産物である IV 型 collagen の局在を免疫組織学的染色により検討した。*hTIN-ag* の解析は、*hTIN-ag* を増幅させる primer pair を作成し、polymerase chain reaction method (PCR) 法にて検討した。最終的な遺伝子欠損の証明は、comparative genomic hybridization (CGH) 法を用いて実施した。

【結果】

光学顕微鏡による観察では、TBM のひ薄化や不連続性が高頻度に認められた。電子顕微鏡による観察では、正常な TBM と比較して NPH 患者では、無構造な沈着物を伴う多層化を示す TBM や、TBM 器質が moth-eaten 状に欠損する異常な構造を持つ TBM が観察された。電子顕微鏡による尿細管上皮の観察では、変形し、コンデンスされた異常な構造を有するミトコンドリアが多数観察された。免疫組織学的検討では、7 例中 5 例の患者で、hTIN-ag 蛋白の部分欠失あるいは不連続性が観察され、1 例ではほぼ完全に欠失していた。一方、typeVI collagen は、hTIN-ag 蛋白と比較して、全症例でよく抗原性が保持されていた。

hTIN-ag の発現を検討したところ hTIN-ag 蛋白がほぼ欠落していた 1 例において PCR による増幅バンドが得られなかった。そこで、この症例について CGH 法を用いて遺伝子欠失の証明を試みたところ、*hTIN-ag* が存在する染色体 6p11-6p12 部において、シグナルの完全欠如が認められた。この症例は現在 12 歳の女子であり、NPH に類似した硬化糸球体と腎嚢胞を伴う尿細管間質性障害のため、末期腎不全に至っている。

【考察】

これまでに、*NPHP* 遺伝子に異常が見つからない NPH 症例の報告も少なからず存在する。すなわち *hTIN-ag* は、そのうちの一つの有力な候補である可能性があり、今後ラージスケールでの検討が望まれる。hTIN-ag 蛋白が、尿細管発生の段階において正常に TBM に組み込まれないことにより、構造的、機能的に不完全な TBM を有する尿細管が形成され、その脆弱性が尿細管の嚢胞状拡張に代表される腎の形態異常を引き起こし、最終的には尿細管構築崩壊による機能障害が進行し、末期腎不全へ移行したものと思われた。

【結語】

hTIN-ag の large deletion を示し、NPH と類似した臨床組織学的所見を呈する 1 小児例を、世界で初めて報告した。*NPHP* 遺伝子に異常が見つからない NPH 患者も少なからず存在していることから、*hTIN-ag* の異常は、一部の NPH の発症に関連している可能性がある。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2010年7月1日 公 表	出版物名 Pediatric Nephrology 25(7): 1349-1353
	公 表 内 容	2010年7月1日 発 行
	全 文 と 要 約	

論文審査結果の要旨

【研究の背景】

若年性ネフロン癆 (juvenile nephronophthisis: NPH) は、小児期に末期腎不全に至る重要な腎疾患の一つである。腎嚢胞形成性疾患の代表であり、組織学的には、進行性の硬化、硝子化糸球体を伴う尿細管間質性腎炎像を呈する。幼少期から 10 歳台までの比較的若年期に発症し、平均年齢 13~14 歳で末期腎不全に移行する。その原因としては、NPHP 遺伝子 (NPHP) 異常により、その産物である nephrocystin 蛋白合成の異常が生じ、腎尿細管上皮の構造的・機能的障害が生じる。一方、尿細管間質性腎炎の中には、尿細管基底膜 (renal tubular membrane: TBM) に存在する tubulointerstitial nephritis antigen (TIN-ag) を標的抗原として発症する自己免疫性の腎症がある。現在までに、NPH 発症にかかわる遺伝子として、NPHP1, NPHP4, NPHP5, NPHP6, NPHP8 の遺伝子が同定されているが、これらに異常を認めない症例も少なからず存在する。我々の NPH 症例の検討でも、36.8% の症例で NPHP 遺伝子異常が発見されなかった。このように、NPH に類似した腎組織所見を有するにもかかわらず、NPHP 遺伝子に異常を認めなかった症例において、hTIN-ag の異常の同定と病態の進行における hTIN-ag の役割について検討した。これまでに我々は、ヒト TIN-ag 遺伝子 (hTIN-ag) のクローニングに成功しており、この遺伝子がコードする分子の性状は、476 個のアミノ酸からなる 54 kDa の糖蛋白であることを明らかにしている。近年になり、hTIN-ag は一部の尿細管間質性腎炎の標的抗原であるとともに、collagen や laminin と協調し、尿細管基底膜の構造・機能維持にも重要な役割を持つ可能性が示唆されている。我々はこれまでに、NPH 患者の TBM では、hTIN-ag の減弱や欠落があることに着目し、尿細管構造や機能の障害に hTIN-ag の異常が関与している可能性を検討した。

【対象と方法】

組織学的 NPH 疑いの患者 19 例において、Salomon らのアルゴリズムに従い、NPHP (NPHP1, 4, 5, 6, 8) を解析した。その結果、NPH に類似した腎組織所見を有するが、これらの NPHP に異常を認めなかった 7 例 (7 例) をスクリーニングし、研究対象とした。腎生検組織を用いて、抗ヒト TIN-ag (H79) モノクローナル抗体を用いた hTIN-ag 蛋白と TBM の主要な構成産物である IV 型 collagen の局在を、免疫組織学的染色により検討した。hTIN-ag の解析は、hTIN-ag

を増幅させる primer pair を作成し、polymerase chain reaction method (PCR) 法にて検討した。最終的な遺伝子欠損の証明は、comparative genomic hybridization (CGH) 法を用いて実施した。

【結果】

光学顕微鏡による観察では、TBM のひ薄化や不連続性が高頻度に認められた。電子顕微鏡による観察では、正常な TBM と比較して NPH 患者では、無構造な沈着物を伴う多層化を示す TBM や、TBM 器質が moth-eaten 状に欠損する異常な構造を持つ TBM が観察された。電子顕微鏡による尿細管上皮の観察では、変形し、コンデンスされた異常な構造を有するミトコンドリアが多数観察された。免疫組織学的検討では、7 例中 5 例の患者で、hTIN-ag 蛋白の部分欠失あるいは不連続性が観察され、1 例ではほぼ完全に欠失していた。一方、type VI collagen は、hTIN-ag 蛋白と比較して、全症例でよく抗原性が保持されていた。hTIN-ag の発現を検討したところ、hTIN-ag 蛋白がほぼ欠落していた 1 例において、PCR による増幅バンドが得られなかった。そこで、この症例について CGH 法を用いて遺伝子欠失の証明を試みたところ、hTIN-ag が存在する染色体 6p11-6p12 部において、シグナルの完全欠如が認められた。この症例は現在 12 歳の女子であり、NPH に類似した硬化糸球体と腎髄質嚢胞を伴う尿細管間質性障害のため、末期腎不全に至り、現在、母をドナーとした生体腎移植がなされ、良好な経過を示している。

【考察】

これまでに、NPHP 遺伝子に異常がみつからない NPH 症例の報告も少なからず存在する。われわれの施設での解析も同様であり、36.8% の症例で発見させなかった。この中に、hTIN-ag の異常を有し、NPH に類似した臨床組織学的性質を持つ症例を、世界で初めて証明した。すなわち hTIN-ag は、NPHP に異常を持たない NPH において、そのうちの一つの有力な候補である可能性があり、今後ラージスケールでの検討が望まれる。hTIN-ag 蛋白は、胎生期から TBM に発現しており、最終的には尿細管構築崩壊による機能障害が進行し、末期腎不全へ移行したものと推察された。

【結語】

hTIN-ag の large deletion を示し、NPH と類似した臨床組織学的所見を呈する 1 小児例を、世界で初めて報告した。*NPHP* に異常が見つからない NPH 患者も少なからず存在していることから、*hTIN-ag* の異常は、一部の NPH の発症に関連している可能性があることが示された。

以上の研究結果は、NPH の末期腎不全への進展の新たな原因と機序を明らかにしたものであるとともに、NPH の責任遺伝子の候補を同定したものである。このことは、今後の本症患者の治療的介入にも貢献するものと思われる。また最終試験にも合格しており、博士論文としての価値を十分有すると思われる。

氏 名	鈴木 聖子
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	医第 1085 号
学位授与の日付	平成 24 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	Guillain-Barré 症候群における抗 GQ1 b 抗体の反応特異性と臨床徴候の関連

論文審査委員 (主査)	教授	楠	進
(副主査)	教授	加藤	天美
(副主査)	教授	宮澤	正顯