

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

小島 茂樹

主論文の題目
および

掲載・審査委員名

題目 Proteomic Analysis of Whole Glomeruli in Patients with IgA Nephropathy Using Microsieving
(マイクロシービング法を用いた IgA 腎症患者由来糸球体蛋白質のプロテオミクス解析)

掲載誌 American Journal of Nephrology 2014; 39: 36-45

主査 舘田 武志

副査 力石 辰也

副査 太田 智彦

[論文の要旨・価値] IgA 腎症 (IgAN) は慢性糸球体腎炎の 40% を占め、末期腎不全の代表的な原因疾患である。IgA 腎症は免疫組織学的に腎糸球体メサンギウム領域に IgA と補体 C3 の顆粒状沈着を特徴とするが病因は不明である。申請者らは経皮的針腎生検体から糸球体のみを単離するマイクロシービング法を確立してきたが、今回、マイクロシービング法を用いて IgAN における糸球体蛋白質プロファイルを行った。IgAN 患者 5 例、および微小変化型ネフローゼ症候群 (MCNS) 患者 5 例 (対照群) の針腎生検体からマイクロシービング法にて糸球体を単離し蛋白質を抽出後、蛍光標識二次元ディファレンシャルゲル電気泳動解析システム (2D-DIGE) にて 2 群間で発現強度比が ±1.5 倍以上異なる蛋白質スポットを選出し、質量分析器で蛋白質を同定した。さらに同定した蛋白質についてウェスタンブロット (WB)、PT-PCR、免疫組織化学染色法による解析を行った。2D-DIGE により 1170 個の蛋白質スポットが得られた。IgAN 群と MCNS 群で発現強度比が ±1.5 倍のスポット 34 個を質量分析し 16 スポットの蛋白質を同定した。この中には IgA heavy chain や補体 C3 が含まれていたが、IgAN 群で強度発現した α アクチニン 4 (ACTN4) について検討を行った。ACTN4 は分子量 77kD の低分子であったことから、その生成機序が選択的スプライシングによるものかを RT-PCR で検討したが選択的スプライシングである DNA は検出されなかった。ACTN4 切断の検証のための抗 ACTN4 抗体を用いた WB では N 末端部分が欠落していることが判明した。さらに抗 ACTN4 抗体を用いた免疫化学染色では糸球体毛細血管壁の染色性が増強していた。本論文はマイクロシービング法によるプロテオーム解析により IgAN 患者で低分子 ACTN4 の増加を示したものであり、IgAN の病因解明に大きく寄与すると考えられ、学位論文に値すると判断された。

[審査概要]

審査は平成 26 年 2 月 20 日に主査、副査の他 7 名の陪席者で行われた。30 分の PC を用いて、IgAN の背景、実験方法、結果、考察などについての発表後、質疑応答が 30 分行われた。質疑では IgAN の病因、低分子 ACTN4 の発症機序、IgAN と低分子 ACTN4 との関連、マイクロシービング法についての今後の展開など多岐に及んだが申請者は的確に回答した。英語読解力は英文文献の一部を指定し、その場での和訳により十分な読解力があると判断した。発表態度は真摯であり、研究に対する熱意も強く感じられ学位授与に値すると判断された。

(最終) 試験結果の要旨

[研究能力・学識等]

1) 専門的知識

IgA 腎症に対する臨床的知識は豊富であり、またマイクロシービング法、2D-DIGE、RT-PCR 法や免疫化学染色法に対する知識も十分であると判断された。

2) 研究能力

当該研究を実際に自ら行っており、十分な研究能力を有すると判断された。

3) 発表能力

聴衆に理解しやすくかつインパクトのあるプレゼンテーションを作成し、また発表も落ち着いており高い発表能力を有すると判断された。

4) 研究意欲

この研究結果をもとに新たな IgA 腎症の血中マーカーの探索や研究の継続、さらに他の腎疾患に対する糸球体蛋白の蛋白質解析などを計画しており、研究意欲は高いと判断された。

5) 態度・人柄

真摯でかつ誠実な人柄が強く感じられ、研究者としても臨床医としても優れていると考えられた。