

論 文 審 査 の 要 旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

安達 崇之

主論文の題目
および
掲載誌・審査委員

題 目 Roles of Layilin in TNF- α -Induced Epithelial-Mesenchymal Transformation of Renal Tubular Epithelial Cells
(尿細管上皮細胞の TNF- α 誘導性上皮間葉移行に対する layilin の役割)

掲載誌 Biochemical and Biophysical Research Communications
2015; 467: 63-69

主査 館田 武志
副査 佐々木 秀郎
副査 斉藤 陽

[論文の要旨・価値]

糸球体腎炎 (GN) において TNF (tumor necrosis factor)- α や TGF (transforming growth factor)- β が腎尿細管上皮細胞の上皮間葉移行 (EMT) を誘導し間質線維化を促進することで腎不全の進行に関与することが示唆されている。Layilin (LAYN) は c 型レクチン様膜タンパク質で、肺上皮細胞や軟骨細胞に発現し細胞間接着に寄与していることが報告されている。申請者らは LAYN が腎尿細管上皮細胞で TNF- α 誘導による EMT に関与するという仮説を提唱し、1) マウスの腎臓及びヒト腎淡明細胞癌株 (KMRC-1) における TNF- α 誘導による LAYN 発現、2) GN 患者と健常者の腎における LAYN 発現、3) TNF- α 誘導による EMT における LAYN の関与について検討した。

(方法・対照) 1) TNF- α 投与 (20, 20 \times 2 μ g) 群と非投与群でマウス腎臓での LAYN 発現をウェスタンブロット (WB) と免疫組織化学染色 (IHC) で評価し、ついで KMRC-1 細胞を用いて TNF- α 刺激群と非刺激群及び TGF- β 刺激群と非刺激群での LAYN 発現を WB と定量的 PCR で評価した。2) IgA 腎症 (IgAGN)、ループス腎炎 (LN)、抗好中球細胞質抗体関連糸球体腎炎 (ANCAGN) 患者及びドナー腎からの腎組織 (24 例) における LAYN の発現と局在を IHC で評価した。3) small interfering RNA (siRNA) を用いて KMRC-1 細胞の LAYN 発現を抑制し、TNF- α と TGF- β 刺激による EMT 誘導を定量的 PCR による vimentin (間葉系マーカー) 及び E-cadherin (上皮系マーカー) の mRNA 測定と F-actin および ZO-1 の蛍光染色で細胞の形態変化を観察した。

(結果) 1) TNF- α (20 \times 2 μ g) 投与によりマウス腎尿細管で LAYN 発現は増加した。2) KMRC-1 細胞において LAYN は TNF- α 刺激で増加し、TGF- β 刺激で減少した。3) IgAGN, LN, ANCAGN では健常腎より尿細管で LAYN が強く発現していた。4) TNF- α 刺激により vimentin 増加、E-cadherin 減少、細胞の形態変化が見られるが、LAYN ノックダウン細胞では vimentin, E-cadherin, 細胞形態の変化は認められなかった。TGF- β 刺激では vimentin, E-cadherin, 細胞形態変化において、対照と LAYN ノックダウン細胞の間に差は認められなかった。以上の結果から、TNF- α が GN 患者の尿細管での LAYN 発現の増強に関与していると考えられた。TNF- α は LAYN を介して尿細管上皮の EMT を誘導し、間質の線維化、腎障害に関与するが、TGF- β は LAYN を介した EMT への関与は少ないと結論した。この論文は LAYN が TNF- α による尿細管上皮細胞の EMT に関与する事を示し、糸球体腎炎における尿細管障害の病態に LAYN が重要な役割を担っている可能性を示唆した重要な論文と判断された。

[審査概要]

審査は主査、副査 2 名の他、陪席者 11 名で行われた。申請者による 20 分間、研究の概要を発表後、質疑応答が行われた。EMT の機序、腎炎の病態と LAYN の発現度、EMT における TNF- α と TGF- β の関与などについて多岐にわたる質問に対し、申請者は真摯にかつ的確に回答していた。さらに今後の研究、臨床への応用など強い研究意欲を示した。以上より申請者は学位授与に値すると判断した。

最 終 試 験 結 果 の 要 旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価]

研究の発表および質疑応答から申請者は研究能力や腎疾患に対する豊富な専門知識を有していると判断した。英語読解力は参考論文の一部をその場で和訳することにより評価し、十分に認められた。以上、申請者には知識・研究能力が十分であると判断した。