

氏名（本籍）	藤高 啓右		
学位の種類	博 士（生物工学）		
学位記番号	博 甲 第 9865 号		
学位授与年月日	令和 3 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	尿中 nano-extracellular vesicles の腎臓病における非侵襲バイオマーカーとしての有用性に関する研究		
主査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉
副査	筑波大学准教授	博士（薬学）	木村圭志
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	柏原真一
副査	筑波大学講師	博士（農学）	石田純治

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、尿中の nano-extracellular vesicles (NVs) 中に含まれる mRNA に着目し、慢性腎臓病 (Chronic kidney disease: CKD) の主な原因疾患である糸球体腎炎、糖尿病およびメタボリックシンドロームの動物モデルを用いて、病態における腎組織中の遺伝子発現の変化、腎機能の変化と NVs 中の遺伝子の発現変化との相関を評価し、liquid biopsy および CKD の診断法としての応用可能性を詳細に検討したものである。

第一章で著者は、序論として CKD の疫学的情報および診断における現状と課題を述べている。現在 CKD の診断に用いられている指標である血清中のクレアチニンや尿中アルブミンは、腎機能が低下した結果を示すものであり、複数存在する原因疾患の多様性や、患者ごとの臓器の障害の状況を調べることができないことから、詳細な病態分類が可能なバイオマーカーの開発が求められていることを指摘している。

第二章で著者は、糸球体腎炎モデルラットを用いて、尿中の NVs 中に含まれる糸球体障害マーカーである desmin の mRNA 発現量の変動が、組織中の mRNA 発現量およびタンパクの発現量の変動と相関することを示している。一方で尿細管障害マーカーである aquaporin1 の尿中 NVs 中における mRNA 発現量は変化していないことも併せて示しており、糸球体特異的な障害モデルにおいて組織中で生じている障害を非侵襲的に検出することが可能なことを確認している。

第三章で著者は、第二章と同様に糸球体腎炎モデルラットを用いて、尿中の NVs 中の各種 mRNA 発現量の変化が薬効評価の指標として活用できるかを検討している。病態発症に関わるとされている複数の分子の mRNA 発現量の変化が尿中 NVs 中で検出できること、さらに薬物の投与によりそれらが抑制されることを明らかにしている。さらに、それらの分子の mRNA 発現量の変化が腎機能の指標である尿中タンパク排泄量と相関することも併せて示しており、薬効評価マーカーおよび腎機能の障害の程度を予測するマーカーとして利用できることを確認している。

第四章で著者は、糖尿病モデルラットおよびメタボリックシンドロームモデルラットを用いて、異なるメカニズムにより発症する腎障害においても尿中 NVs 中の mRNA 発現量の解析が同様に活用できることを検証している。

第五章で著者は、本研究の結果および過去の尿中 NVs に関する研究結果に関する文献を基に総合的に考察し、尿中 NVs の CKD の非侵襲的なバイオマーカーとしての有用性とさらなる課題についてまとめている。尿中 NVs 中の mRNA 発現量は臓器中で生じた変化を反映しうることを示し、障害の重篤度および腎機能との相関に関する情報を得ることが可能な有用な手法であることを述べている。

審 査 の 要 旨

現在 CKD の診断は、血清中クレアチニンや尿中タンパクの増加が健康診断等で見つかることが発端となることが多いが、これらのパラメータの変動が認められる段階では腎臓の障害が既に進んでいると考えられている。また、これらのパラメータは腎機能低下の結果を反映するのみであり、多様な CKD の病態を個別に解析することは不可能である。腎臓の状態を詳細に検査したい場合、腎生検が行われるが、非常に患者への負担が大きい検査であることから適応例が限られており、これに替わる検査法の開発が求められている。本研究は、上述の課題に対する解決策を提示するものとして、社会的に大きな意義をもつと考えられる。

審査対象論文において、著者は、糸球体腎炎モデルラットを用いて、尿中の NVs 中の糸球体障害マーカーである desmin の mRNA 発現量の変動が、腎組織中の desmin の mRNA 発現量およびタンパク発現量の変動と一致していることを明らかにしている。一方で、尿細管障害マーカーには変動が見られないことを示し、糸球体特異的な障害を非侵襲的に検出できることを裏付けており、尿中 NVs 中の mRNA 発現量の変化が適時的に組織における変化を反映していることを示す知見を提供している。

また、著者は病態発症に関わるとされる複数の分子の mRNA 発現量の変化とそれらに対する薬物投与による影響を検討することで、尿中 NVs 中の mRNA 発現量の測定により病態メカニズムの解析が非侵襲的に可能であることを示したほか、これらの mRNA 発現量が腎機能と相関することも確認している。これらの結果は、尿中 NVs 中の mRNA がバイオマーカーとして有用であるという新たな知見を提示している。さらに、著者はこの解析手法が、異なるメカニズムで腎障害が発症していると考えられる糖尿病モデルラットおよびメタボリックシンドロームモデルラットにおいても活用できることを示しており、汎用性を確認している点でも評価できる。

最後に著者は、これらの尿中 NVs 中の mRNA 発現量解析の有用性および課題について、本研究結果および文献を基に考察を示している。最新の知見を参考に、本手法のさらなる発展のための方策を提示していることに加え、コスト面等から社会実装を想定した本手法の有用性および課題を提示していることも評価でき、今後の CKD 診断におけるバイオマーカーとしての利用が期待される。

令和3年1月22日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。