

氏名	臼井 俊明		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第 9178 号		
学位授与年月	平成 31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	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Transcription factor MafB in podocytes protects against the development of focal segmental glomerulosclerosis. (ポドサイトにおける転写因子 MafB は巣状分節性糸球体硬化症の発症を防ぐ。)		
主査	筑波大学教授	博士 (獣医学)	杉山 文博
副査	筑波大学教授	博士 (医学)	柳川 徹
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	酒井 俊
副査	筑波大学講師	博士 (理学)	三輪 佳宏

論文の内容の要旨

臼井俊明氏の博士学位論文は、ポドサイトにおける MafB の機能と慢性腎臓病（特に巣状分節性糸球体硬化症）との関連を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

(目的)

巣状分節性糸球体硬化症 (FSGS: focal segmental glomerulosclerosis) は、ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群の原因となる代表的な疾患である。FSGS は自然寛解することは稀であり、20年の経過で約 60% が末期腎不全 (ESRD: end-stage renal disease) になるとされている。転写因子 MafB は糸球体上皮細胞 (ポドサイト) の発生において、その成熟・足突起形成に重要である。MafB は成体のポドサイトで発現が持続しているが、全身で MafB を欠損させたマウスは出生直後に死亡してしまう。そのため、成体のポドサイトにおける MafB の機能は分かっていた。最近になり、ヒト MAFB の変異が報告され、FSGS を呈して、ESRD に進行することが報告された。そこで筆者は、ポドサイトにおける MafB の機能と慢性腎臓病（特に FSGS）との関連を検討することを目的として本研究を行ったものである。

(対象と方法)

MAFB の DNA-binding domain に変異のある患者は、外転神経麻痺を呈する Duane retraction syndrome (DRS) と FSGS を合併する。DRS を合併した FSGS を呈する 3 名の患者 (FSGS-DRS) において、腎生検検体での MAFB 免疫染色を行っている。また、微小変化型ネフローゼ症候群、IgA 腎症、一次性 FSGS、糖尿病性腎症の患者の腎生検検体で、MAFB 免疫染色を行い、その発現を比較している。

タモキシフェン (TAM) を投与することで、ポドサイト特異的・時期特異的に MafB を欠損させることができる *Mafb^{fllox/fllox}::NPHS2-Cre ER^{T2}* マウスに対し、6 週齢で TAM 投与を行い、ポドサイト特異的に MafB を欠損させた MafB cKO マウスを作製している。TAM 投与後の尿蛋白推移・単離糸球体の *Mafb*

発現量の推移を調べ、さらに TAM 投与前と投与後 16 週で血清クレアチニンと BUN・尿アルブミンの評価を行っている。TAM 投与 8 週で単離糸球体 RNAseq を行って分子メカニズムの検索を行い、標的遺伝子と考えられる遺伝子に対して、ルシフェラーゼアッセイを行い、標的遺伝子がコードするタンパク質の発現量を FSGS-DRS 患者の腎生検サンプルと MafB cKO マウスにおいて MafB 免疫染色を行って評価している。

ポドサイト特異的に MafB を過剰発現させた (MafB TG) マウスに対して、アドリアマイシン (ADR: Adriamycin) にて FSGS を誘導し、尿蛋白と腎組織評価を行っている。最後に、WT マウスに FSGS を誘導し、MafB 誘導剤であるオールトランスレチノイン酸 (atRA: all-trans retinoic acid)の投与が FSGS を防御できるかを検討している。

(結果)

FSGS-DRS 患者の腎生検検体を用いた解析において、筆者は、①ポドサイトにおける MAFB の発現が低下してこと、②一次性 FSGS と糖尿病性腎症においてポドサイトの MAFB 陽性細胞数が有意に減少していること、③FSGS で MAFB 陽性細胞数が有意に減少していることを見出している。また MafB cKO マウス解析において、筆者は、①TAM 投与 1 週間後の単離糸球体において MafB 発現が 10%以下まで低下していること、②アルブミン尿と FSGS 様の腎組織変化を呈し、腎不全を発症にて生存率が低下していること、③糸球体のスリット膜関連蛋白 (Nphs1 と Magi2) とポドサイト特異的転写因子 (Tcf21) の発現低下していること、④レポーターアッセイにて、MafB が直接、前述の遺伝子発現(Nphs1・Magi2・Tcf21)を制御している可能性があること、⑤腎免疫染色で Nphs1、Magi2、Tcf21 の低下ことを見出している。さらにポドサイトに MafB を過剰発現させた MafB TG マウスでは、ADR による FSGS モデルの糸球体障害が WT マウスよりも軽減していること、ADR による FSGS マウスモデルでは atRA 投与により FSGS が緩和されることを見出している。

(考察)

ヒトとマウス両方において、ポドサイトでの MafB の発現低下は、FSGS の病態形成に関連している可能性が高い。MafB はスリット膜関連蛋白 (Nphs1 と Magi2) とポドサイト特異的転写因子 (Tcf21)の転写を制御し、ポドサイト機能維持に必須であると考察している。加えて、ポドサイト特異的に MafB を過剰発現させたマウスと atRA の投与の両方において、マウス FSGS モデルで糸球体障害が改善しており、MafB が慢性腎臓病のポドサイト障害に対して保護的な役割を持つことを示唆している。

審査の結果の要旨

(批評)

本博士学位論文はポドサイトにおける MafB の機能と慢性腎臓病（特に FSGS）との関連を検討することを目的として行われたものである。著者は、ポドサイトにおいて MafB がスリット膜関連タンパクとポドサイト特異的転写因子を制御しており、ポドサイト機能維持に必須であること、ポドサイトの MafB 欠損により FSGS を引き起こすことを明らかにしている。さらに著者は、MafB がポドサイトで過剰発現させることで、マウスの FSGS に対して保護的に作用をしめすことを明らかにしている。従って、本研究は MafB が FSGS の治療ターゲットとなり得る新たな知見を与えるものであり、高く評価される。

平成 31 年 1 月 16 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論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

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