

論文の内容の要旨

氏名：高橋 悠乃

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：LPS,IL-13による腎糸球体上皮細胞傷害とリツキシマブの作用についての研究

【背景】蛋白尿は腎疾患における腎機能悪化のリスクファクターである。腎糸球体上皮細胞（以下ポドサイト）は腎糸球体において蛋白漏出を防ぐ濾過障壁を構成している。特に微小変化型ネフローゼ症候群においては、腎組織でみられる唯一の病的所見がポドサイト足突起の癒合であることから、ポドサイト障害が病態の主要因であると考えられている。近年、難治性ネフローゼ症候群に対する新規治療薬としてヒト-マウスキメラ型の抗CD20モノクローナル抗体であるリツキシマブ（以下RTX）が使用されるようになり、多くの症例が寛解を維持できるようになった。RTXはCD20以外の認識部位として報告されたSphingomyelin phosphodiesterase acid like 3B（以下SMPDL3B）を介して、ポドサイトに直接作用し保護すると考えられているが詳細な作用機序は不明である。

【目的】そこで、ポドサイト傷害を生じる物質として大腸菌由来のLipopolysaccharide（以下LPS）とネフローゼ症候群患者血清中で上昇するInterleukin-13（以下IL-13）に着目し、これらによるポドサイト傷害とRTXの保護効果について検討した。

【方法】条件的不死化したヒト培養ポドサイトを用いて、LPSとIL-13による培養ポドサイト傷害を検討した。細胞生存率、アポトーシス誘導、細胞骨格リモデリング、形態学的変化について検討し、それぞれ

に対するRTXの影響をみた。また、RTXのoff targetであるSMPDL3Bの発現について、RNA発現定量法を用いて定量した。

【結果】LPSによって培養ポドサイトの細胞生存率は濃度依存性に低下しアポトーシスが誘導される傾向にあった。IL-13ではその傾向はみられなかった。また、予想に反してRTXによってこれらの培養ポドサイト傷害は増強された。一方でLPS,IL-13によって培養ポドサイトの細胞骨格リモデリングが生じ、RTXにより保護される傾向にあった。SMPDL3BはLPS,IL-13によって発現が低下しRTXによりreverseした。また、IL-13によって培養ポドサイトが剥離し、隣接する培養ポドサイトによって取り込まれ消失する

像が観察された。

【考察】RTXはポドサイトの保護作用があると考えられているが、B細胞腫の細胞株に対してはSMPDL3Bが持つ酸性スフィンゴミエリナーゼ活性の増強によりセラミド産生を増加させると報告されている。セラミドは細胞のアポトーシスを誘導し得る脂質メディエータとして注目されており、RTXによるセラミド産生増強がアポトーシスを誘導した可能性が示唆された。また、細胞骨格リモデリングはポドサイト足突起の癒合に關与する重要なポドサイト傷害である。RTXが培養ポドサイトの細胞骨格維持に關与し、さらに、培養ポドサイトに自己修復機構が備わっている可能性が示唆された。

【まとめと今後の展望】本研究の限界としてin vitroのみの研究で、RTXやSMPDL3Bによるセラミド代謝機構の分子学的機序究明が不十分である点があげられる。本研究ではLPSやIL-13によるポドサイト細胞骨格リモデリングをRTXが培養ポドサイトに直接作用し調整している可能性が示唆された。ポドサイトに対するリツキシマブの直接作用機序の解明は、ポドサイト障害にセラミド代謝機構が關与している可能性を示唆するものであり、ネフローゼ症候群に対する新規治療ターゲットの発見につながると考える。