

## 論文審査の結果の要旨

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

審査委員：（主 査） 教授 根 東 義 明

（副 査） 教授 武 井 正 美 教授 中 山 智 祥

教授 橋 本 修

本研究の目的は、ネフローゼ症候群の治療に用いられるヒト・マウスキメラ型抗 CD20 モノクローナル抗体 Rituximab(以下 RTX)の培養ヒト腎糸球体上皮細胞（以下 培養ポドサイト）に対する直接的保護作用の存在を明らかにすることである。本研究では、培養ポドサイトを用いて、未分化および分化条件でのポドサイト分化マーカーPodocin、Synaptopodin および CD2-associated protein（以下 CD2AP）の発現、Lipopolysaccharide(以下 LPS)および Interleukin-13(以下 IL-13)投与時や RTX 併用時の培養ポドサイト生存率、細胞形態変化、アポトーシス誘導、ストレスファイバー形成、さらに Sphingomyelin phosphodiesterase acid like 3B（以下 SMPDL3B）の発現などが総合的に検討されている。

まず、蛍光免疫染色法およびマイクロアレイ解析の結果から、分化誘導により上述の 3 分化マーカーおよびその RNA の発現増強が確認され、用いた培養ポドサイトが適切に腎糸球体上皮細胞の形質を発現していた。

次に、LPS の投与は培養ポドサイトの細胞生存率を低下させた。RTX は、比較対照の IgG と同様にアポトーシスを誘導したものの、LPS および IL-13 によるストレスファイバーの形成減少や cortical F-actin 形成などの細胞骨格リモデリング誘発を改善した。さらに、LPS および IL-13 はいずれも、RTX の off-target でありセラミド代謝に関係する SMPDL3B 遺伝子の発現を有意に低下させたが、RTX はそれらの発現低下を改善した。

以上のことから、RTX は LPS による傷害に対しては増強、IL-13 による傷害にたいしては保護するという新たな知見を明らかにした。また、これらの研究成果に加えて、IL-13 が培養ポドサイトにおいて、entosis が強く示唆されるダイナミックな形態学的変化を誘導することも観察された。

本研究は、RTX が IL-13 による腎糸球体上皮細胞の細胞骨格リモデリングや SMPDL3B の変化に対し保護作用をもつことを初めて明らかにした。その成果は、ネフローゼ症候群をはじめとする蛋白尿を伴う腎疾患における RTX の腎糸球体上皮細胞傷害改善機序に関する新たな知見であり、今後の当該領域における医学・医療研究の発展に大きく貢献するものと期待される。

よって本論文は、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと認める。

以 上

平成30年2月28日