

審査の結果の要旨

氏名 和田健彦

本研究は腎メサンギウム細胞発現遺伝子のスクリーニングによって発見された新規遺伝子をクローニングし、コードする蛋白の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 培養ヒトメサンギウム細胞由来の mRNA より 3'-directed cDNA library を構築し、rapid large-scale DNA sequence 法で得られたデータを遺伝子データベースと比較することにより、新規遺伝子を発見した。これを 5'RACE 法により遺伝子全長の配列を決定したところ、全長 3901 bp, 950 アミノ酸からなる蛋白をコードすると考えられた。また、プロテインホスファターゼ 4 (PP4) の制御サブユニット PP4<sub>R1</sub> と非常に高い相同性を有することから、この遺伝子も PP4 の制御サブユニットをコードしているものと考えられ、PP4<sub>Rmeg</sub> と命名した。
2. ラット培養メサンギウム細胞由来の cDNA を用いてラットホモログの配列も決定し、ヒトとラットの間で 86.3 % と高度に保存されていることがわかった (アミノ酸レベル)。特に 5'側・3'側の特徴的な繰り返し配列部分では高い保存性が見いだされた。
3. この遺伝子を発現ベクターを用いて哺乳動物細胞中で発現させ、この蛋白について免疫沈降法を用いて蛋白結合解析を行ったところ、PP4 の触媒サブユニットと結合することが確認され、実際に PP4 制御サブユニットとして機能することが示された。

4. ヒト臓器由来 mRNA とヒト培養細胞由来の mRNA について Northern blotting を用いて PP4 制御サブユニットの発現解析を行ったところ、解析した全ての臓器について ubiquitous な発現を認めたが、培養細胞系ではメサンギウム細胞において多量の発現を認めた。
5. ヒト正常腎組織における PP4 制御サブユニットの *in vivo* での発現を *in situ* hybridization を用いて解析したところ、糸球体内優位な発現パターンが確認された。
6. メサンギウム増殖性腎炎モデルである Thy 1 腎炎ラットの糸球体における PP4 制御サブユニットの発現量の変化を Northern blotting により解析したところ、メサンギウム細胞の増殖期に先駆けて発現の増加を認めた。以前の PP4 の機能に関する報告を考慮すると、PP4 制御サブユニットの発現増加はメサンギウム細胞の分裂・増殖に関与している可能性が示唆された。

以上、本論文はメサンギウム細胞発現遺伝子群から新規遺伝子をクローニングし、これがコードする蛋白が PP4 制御サブユニットとして機能することを確認し、その局在とメサンギウム細胞増殖前期における発現増加を明らかにした。

本研究は、まだ解明されていない PP4 の活性調節機構に関与する新規遺伝子を明らかにし、また慢性糸球体腎炎の中でも主要な位置を占めるメサンギウム増殖性腎炎におけるメサンギウム細胞増殖のメカニズム解明に貢献すると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。