

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 山田 耕永

本研究は、補体依存性糸球体腎炎において補体による糸球体障害を軽減するために重要な役割を演じている可能性がある可溶性補体調節蛋白のクラスタリンに注目し、補体の攻撃により糸球体メサンギウム細胞がクラスタリンの産生を増加させるかどうかを *in vitro* および *in vivo* で検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 補体刺激によるメサンギウム細胞でのクラスタリン蛋白発現を調べるため、培養ラット糸球体メサンギウム細胞に sublytic な C5b-9 による刺激を加え培養上清を用いて Western blot を行ったところ、刺激後 24 時間目をピークとするクラスタリン蛋白の発現増加を認めた。さらに Northern blot 法によりクラスタリン mRNA 発現増加も認められた。
2. ラットにモノクローナルな抗 Thy1 抗体(OX-7) を投与することで C5b-9 依存性腎炎である Thy1 腎炎を惹起し、抗体投与後細胞増殖がピークとなる 8 日目と腎炎回復期である 29 日目の腎組織の糸球体細胞でのクラスタリン mRNA の発現を Northern blot および *in situ* hybridization により解析したところ、OX-7 を投与しなかったコントロール群に比べ Thy1 腎炎 8 日目と 29 日目における糸球体細胞でのクラスタリン mRNA の発現増加が認められた。
3. 上記の Thy1 腎炎における糸球体でのクラスタリン蛋白の発現を調べるため免疫組織染色を行ったところ、コントロール群に比べ Thy1 腎炎 8 日目と 29 日目の糸球体メサンギウム領域にクラスタリン蛋白の発現増加を認めた。

4. Thy1 腎炎におけるクラスタリンの発現増加が C5b-9 の刺激によるものであることを示唆するため、クラスタリンと C5b-9 の蛍光免疫二重染色を行ったところ、Thy1 腎炎 8 日目の多くの糸球体メサンギウム領域のクラスタリン蛋白の沈着は C5b-9 の沈着と一致して認められた。なおコントロールラットおよび Thy1 腎炎 29 日目の糸球体には C5b-9 の沈着はみられなかった。

以上、本論文は *in vitro* および *in vivo* で補体刺激が糸球体メサンギウム細胞のクラスタリン産生を増加させること、さらに Thy1 腎炎 8 日目の多くの糸球体メサンギウム領域にクラスタリンが C5b-9 と共存することを明らかにした。このようなクラスタリン発現増加は、補体による攻撃から糸球体メサンギウム細胞を防御するために重要な役割を果たしている可能性があると考えられた。これまで糸球体腎炎において可溶性補体調節蛋白が糸球体細胞局所で過剰産生されるとの報告はなく、本研究は遺伝子組み替え型クラスタリンの投与や遺伝子導入による糸球体局所でのクラスタリン過剰発現によって糸球体腎炎を抑えるという新たな治療戦略を呈示する重要な研究と考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。