

審査の結果の要旨

氏名 久保 かなえ

本研究は進行性腎障害の発症、進展および予後に関する因子を解明するために Wilms' tumor suppressor gene (wt1) mRNA を尿沈渣細胞から検出することを試みたものである。尿中 wt1 の検出と進行性腎障害の程度との関連を検討し、更に尿中 wt1 の isoform の発現についての解析を行い、下記の結果を得ている。

1. 尿沈渣細胞からRNAを分離してnested RT-PCR法により尿中のwt1 mRNA発現を検出した結果、wt1の発現頻度は蛋白尿のない糖尿病などの腎障害のない疾患に比べて糖尿病性腎症や慢性糸球体腎炎、ループス腎炎といった進行性腎障害患者において有意に高率であり (21-35%)、腎機能が正常で尿所見に異常のない健常者や膿尿を伴う膀胱炎患者のように尿沈渣中に細胞成分が多い患者からはwt1が検出されなかった。wt1は糸球体上皮細胞 (podocyte) 以外の尿路系には発現しておらず、尿中wt1の検出は糸球体基底膜から剥離したpodocyteの存在を示しており、この検出法はpodocyte由来のwt1 mRNAのみを検出していると考えられた。
2. 進行性腎障害の3群 (糖尿病性腎症、慢性糸球体腎炎、ループス腎炎) で wt1 陽性例と wt1 陰性例の臨床所見を比較した結果、蛋白尿の程度は wt1 陽性例の方が有意に高く、糖尿病性腎症においては、血清クレアチニン値も wt1 陽性例で有意に高値を示した。尿中 wt1 の発現は定量的な評価ではないが、これらの結果から、尿中 wt1 の検出が簡便で迅速な糸球体傷害の marker となる可能性があり、特に糖尿病性腎症の重症度に関係しうると考えられた。
3. wt1は2つのalternative splice site (17アミノ酸をコードするexon 5とexon 9-3'側に存在し

3アミノ酸をコードするKTS) により4つのisoformが存在する。nested RT-PCR法でexon 5を含むisoform (+ exon 5) とexon 5を含まないisoform (- exon 5) の解析を行った結果、+ exon 5が検出された患者群 (37例) では - exon 5のみが検出された群 (7例) に比べて血清クレアチニン値が高値の傾向にあり、蛋白尿の程度も+ exon 5群が - exon 5群より高い傾向にあった。また+ exon 5群の19%が1年以内にESRDに至ったのに対し、- exon 5群にESRDに至った症例は見られなかった。- exon 5が殆ど正常に近い腎機能の患者から検出されたのに対し、+ exon 5群の多くは腎機能の低下した患者から検出されていた。

4. KTSを含むisoform (+ KTS) とKTSを含まないisoform (- KTS) の解析を行った結果、+ KTSのみが検出された患者群 (14例) の血清クレアチニン値は - KTSのみが検出された群 (10例) より低値で、蛋白尿も軽度であり、+ KTSのみ検出された群の血清クレアチニン値、尿蛋白の程度はともに+ KTS、- KTS両方が検出された群 (26例) よりも有意に低かった。wt1検出時の血清クレアチニン平均値が + KTSと - KTS両方が検出された群、- KTSのみが検出された群で高値であっただけでなく、1年以内にESRDに至った患者も - KTSが検出された2群にみられ、+ KTSのみが検出された群ではESRDに至った症例はなかった。

以上、本論文は nested RT-PCR 法によって尿沈渣細胞から遺伝子解析を行うことが可能であることを示し、尿中 wt1 mRNA の検出が進行性腎障害の程度と関連している可能性を示唆した。更に、定量的な解析ではないが、4 つの isoform の尿中での発現状態が進行性腎障害の程度や進行に関与している可能性を示し、4 つの isoform がそれぞれ異なる機能に関与すると報告されていることから、wt1 というひとつの遺伝子産物の機能的異常が進行性糸球体病変のメカニズムに関与している可能性を示唆すると考えられた。多因子疾患であると考えられる進行性腎障害に影響を及ぼす一因子として wt1 を取り上げ、尿沈渣細胞を用いて解析を行うという新たな方法で腎障害のメカニズムを解明しようと試み、wt1 の発現および isoform の発現様式が進行性糸球体疾患の程度と予後に関係するというを示した本研究は学位の授与に値するものと考えられる。