

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 日野 雅予

本研究は、蛋白尿の病因主座である糸球体上皮細胞において、保護的作用を有すると考えられるアドレノメデュリン (AM) の役割を明らかにするため、培養糸球体上皮細胞を用い、細胞障害の機序、ならびに AM の保護作用の有無を特に酸化ストレス、apoptosis の観点から検討したものであり、以下の結果を得ている。

1. 培養糸球体上皮細胞における AM および AM 受容体の発現について、Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)法を施行した。その結果、培養糸球体上皮細胞において AM および AM 受容体は共に定常状態で発現していることが確認された。
2. 培養糸球体上皮細胞に細胞障害性因子(過酸化水素、低酸素、アルブミン、puromycin aminonucleoside (PAN)、腫瘍壊死因子- α (TNF- α))を加え、AM 蛋白濃度が上昇することを RIA 法により確認した。PAN、TNF- α 刺激により AM mRNA の発現が亢進することを定量 PCR で示した。
3. PAN により酸化ストレスが亢進することを、蛍光色素による検出、EIA 法による培養上清 8-OHdG 測定、ニトロチロシンの Western blotting で確認した。また PAN により apoptosis が亢進することを Hoechst33342 染色および caspase-3 活性の検出により確認した。さらに PAN により細胞障害マーカーB7-1(CD80)の遺伝子発現が亢進することを定量 PCR で示した。

4. PAN 投与による apoptosis・細胞障害マーカーB7-1、よびアドレノメデュリン発現の亢進は、抗酸化剤の投与で抑制されることから、酸化ストレスを介するものと考えられた。
5. AM 受容体拮抗剤 CGRP8-37 は、PAN による酸化ストレスならびに apoptosis を増強することから、内因性 AM は酸化ストレスを抑制することにより anti - apoptotic に作用することと考えられた。

以上、本論文は、培養糸球体上皮細胞に AM が存在することをはじめて示し、細胞障害性刺激に対し、AM は抗酸化作用および抗 apoptosis 作用を介して細胞保護的な作用を有することを示した。本研究はこれまで未知に等しかった、糸球体上皮細胞障害における AM の作用の解明に新たな貢献をなすものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。