

審査の結果の要旨

氏名 上浦 望

本研究はbasic helix-loop-helix型の転写因子であるMyoRの腎再生における新規の機能を明らかにするため、MyoR遺伝子のホモ欠失マウスにシスプラチンを腹腔内投与して急性腎不全を惹起する系にて、腎保護・腎再生因子の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. MyoR欠失マウスと野生型マウスのベースラインの血液・腎組織の解析により、MyoR欠失マウスはベースラインでは異常を認めないことを示した。また既報とは異なり、野生型マウスの腎臓でMyoRの発現をRT-PCR法で検出した。シスプラチン投与による急性腎不全モデルを作成することにより、野生型マウスに比べMyoR欠失マウスでは、シスプラチン投与後に著明な腎機能低下が起こり、腎組織では尿細管壊死が増悪して生存率が低下することが示された。
2. BMP-7特異的なプライマーを用い、リアルタイムPCR法を行ったところ、野生型マウスではBMP-7の発現レベルがシスプラチン投与後に有意に上昇するが、MyoR欠失マウスではシスプラチン投与後のBMP-7の発現亢進を認めないことが示された。また腎組織のフローサイトメトリー解析を行ったところ、MyoR欠失マウスにおいては腎の組織幹細胞であるSide population細胞のシスプラチン投与による減少率が野生型マウスより増加することが示された。
3. TUNEL法により腎組織のアポトーシスを評価したところ、MyoR欠失マウスでは野生型マウスよりも顕著なアポトーシス細胞の増加を認めた。また、初代培養尿細管細胞にシスプラチンを投与してアポトーシスを核染色とELISA法で評価した。MyoR欠失マウス由来の尿細管細胞では、野生型由来の細胞に比べてアポトーシスの増加を認めた。ウェスタンブロット法により各アポトーシス因子の挙動を比較したところ、MyoR欠損細胞ではシスプラチン投与後のp53, リン酸化p53, p21の蛋白発現が野生型よりも減少するが、Baxの発現は保たれており、尿細管細胞のシスプラチンによるアポトーシスにおいて、MyoRが欠損することで、p53が抑制されると同時にp53非依存性のアポトーシスが増加しうることが示

された。

以上、本論文はMyoR遺伝子のホモ欠失マウスにおける、アポトーシスを中心とした腎再生機構の解析から、basic helix-loop-helix型転写因子MyoRがアポトーシスの制御に新たな機能をもつ可能性があり、またMyoRの欠損によりBMP-7の発現や腎臓の組織幹細胞の生存・維持機構が障害されることを明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった、成体腎組織でのMyoRの機能の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。