

審査の結果の要旨

氏名 本田 謙次郎

本研究は、成人のネフローゼ症候群における全ゲノム関連解析で近年報告された *SULF2/PREX1* 間に存在する一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) について、同領域をさらに詳細に解析した最初の研究である。さらに、過去に報告されている SNP rs11086243 が *SULF2* 発現に関連していたことから *SULF2* が腎において機能的に重要な役割を演じているという仮説を立て、その発現や腎障害時の変化を *in vitro*、*in vivo* の系を用いて評価した。今回の研究によって得られた結果は下記の通りである。

1. *SULF2/PREX1* 両遺伝子間の約 1Mb にわたる領域における 20 のタグ SNP の genotyping 結果をもとに、成人ネフローゼ症候群患者 201 名、尿異常のない健康診断受診者 300 名の末梢血中の白血球から抽出した genomic DNA を用い、e-QTL (expression Quantitative Trait Locus) 解析、transcription factor-related research、imputation analysis を用いて同領域の詳細な SNP 解析を行った。これにより疾患発症に関連する 12 の候補 SNP を選択した。そのうち、ハプロタイプ解析において *SULF2/PREX1* 領域の 2 SNP において疾患発症に有意なハプロタイプを得た (P=0.0088, 5000× permutation test)。このうちの一方の SNP は *SULF2* 遺伝子より約 70kb 上流に存在し、既報である rs11086243 よりも *SULF2* 遺伝子に近い位置に存在した。
2. 腎糸球体において *SULF2* が発現していること、発現の一部が nephrin と一致することを蛍光免疫染色で示した。また、マウス糸球体上皮細胞を用いた蛍光免疫染色により、糸球体上皮細胞では主に細胞表面と核およびその周囲に *SULF2* の発現が見られることを明らかにした。
3. 2つのマウスのネフローゼ症候群モデル (Puromycin + FGF2 nephropathy model, Adriamycin nephropathy model) を確立し、細胞障害時に nephrin の発現低下と共に *SULF2* の発現低下を認めた。さらに *SULF2* の下流にある Bone Morphogenetic Protein 6 (BMP6) が上昇すること、 $\beta$  catenin の活性化が見られることを示した。
4. ラット糸球体上皮細胞では、*SULF2* の knock down により Bone Morphogenetic Protein 6 (BMP6) の発現が上昇した。ラットのメサンギウム細胞では *SULF2* の knock down により FN1 の発現が上昇した。

本論文は *SULF2/PREX1* 間に存在する SNP を詳細に解析した最初の研究であり、ネフローゼ症候群発症に強く関わるハプロタイプを同定した。*SULF2* 低発現が障害時に出現すること、またそれが腎障害のリスクとなることを *in vitro*, *in vivo* の系を用いて明らかにし、その下流にある複数の *pathway* が腎糸球体内の複数の細胞に作用することを発見した。遺伝学的解析、機能解析により腎疾患における *SULF2* の重要性を明らかにしており、学位の授与に値するものと考えられる。