



Title	腎疾患のバイオマーカーとしてのLeucine-rich α -2 glycoprotein (LRG) の発現機序及び機能解析
Author(s)	李, 賢
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69660
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏名 (李 賢)

論文題名

腎疾患のバイオマーカーとしてのLeucine-rich α -2 glycoprotein (LRG) の発現機序及び機能解析

論文内容の要旨

Leucine rich α -2 glycoprotein (LRG) は私の所属する研究室で関節リウマチの患者血清から同定された新たな炎症マーカーである。LRGは日常診療にて用いられる炎症マーカーのC-reactive protein (CRP) と違い、IL-6以外の炎症性サイトカインでも誘導され、肝臓のみならず炎症部位でも産生される。このことから、IL-6阻害治療中の関節リウマチや、IL-6非依存性の炎症性疾患である炎症性腸疾患やsystemic lupus erythematosus (SLE) などにおいて最適な炎症マーカーとなりうると考えられる。以前、私はループス腎炎 (Lupus nephritis; LN) 患者および腎炎を認めるSLEモデルマウスの尿にLRGが出現することを見出し、有効なバイオマーカーのないLNのバイオマーカーとして尿LRGが有用である可能性を示唆した。しかしながら、LNにおいてLRGがどんな病態を反映して発現するか、また病態に何らかの役割をしているかについては未解明のままであった。そこで本研究では、LNにおけるLRGの発現機序と病態との関わりについて調べた。

はじめに、SLE患者の尿LRGを測定した。その結果、過去にLNと確定診断されたヒトSLE患者のうち、現在も腎機能に異常がある患者の尿でLRGが有意に高値であった。次にSLEのモデルマウスであるNZ B/W F1を経時的に観察したところ、尿LRGは、糸球体病変進行の指標となる尿アルブミンの増加と同時期に上昇し、LNを認めるマウスの腎臓ではLRG mRNAが上昇した。しかし、腎組織におけるLRG蛋白は、糸球体病変部位にはなく損傷された尿細管に、アルブミンとともに局在していた。さらに、初代腎皮質部尿細管上皮細胞をLNに関わる様々な炎症性サイトカインで刺激したところ、LRGがIL-1 β 刺激で誘導されることを確認した。以上からLNにおけるLRGは、IL-1 β によって尿細管から産生されると考えられ、その発現機序はLN特異的ではない可能性があると考えた。

尿蛋白は、糸球体損傷を表す検査指標の一つであると同時に、尿細管障害を起こす原因でもある。尿に流出する蛋白の主成分はアルブミンであり、その殆どは通常の場合、尿細管上皮で再吸収される。しかし、大量の尿蛋白は尿細管に各種ストレスをもたらし、NLRP3活性化によるIL-1 β ・IL-18の産生を通じて炎症や細胞障害を起こすことが報告されている。そこで私は、尿蛋白が誘導する尿細管上皮の障害でLRGが産生されるかどうか、蛋白尿による尿細管障害の研究に使用されるアルブミン負荷モデルを用いて検討した。アルブミン負荷後のマウスにおいては、LRG蛋白が尿で上昇し、腎臓でもmRNA発現の上昇が認められた。また、腎組織の免疫染色では、LRGが損傷した全種類 (近位、遠位尿細管および集合管) の尿細管上皮に局在することを確認した。さらに、マウス初代腎皮質部尿細管上皮細胞を用いたin vitroでの検討で、アルブミン負荷によって産生されたIL-1 β がLRGを誘導することを確認した。以上から腎におけるLRGは、尿蛋白による尿細管障害の発生時にIL-1 β を介して尿細管で産生されることが示唆された。最後に私はLRGがこの病態において何らかの役割を持っているかを調べた。LRGは、免疫制御や線維化促進などの様々な作用を持つ

Transforming growth factor β (TGF β) の機能を調節することが報告されており、私が所属する研究室でもLRGがTGF β の機能を増強し、炎症や線維化に関わることを明らかにしている。ここではLRGノックアウト (KO) マウスを用いてアルブミン負荷モデルを作製し、代表的な所見である蛋白尿、NLRP3・IL-1 β ・IL-18の発現、尿細管病変、マクロファージの浸潤を野生型 (WT) マウスと比較検討した。その結果、蛋白尿およびNLRP3・IL-1 β の発現がLRG KOでやや低い傾向があったものの、どの所見もWTと有意な違いを認めなかった。しかし、LRGは炎症だけでなく線維化を促進する可能性があるため、腎疾患におけるLRGの作用については、より長期の観察や別モデルで、今後も検討する必要があると考えられる。

今回の研究の結果、多くの腎疾患の代表的症状である蛋白尿によって障害を来した尿細管上皮細胞が、自ら分泌するIL-1 β の刺激によりLRGを産生し、尿に排出することが示唆された。尿LRGは、LNの病態に特異的なバイオマーカーではないが、腎疾患において尿細管障害の存在を示す尿バイオマーカーとして有用であると考えられた。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (李 賢)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	長澤 丘司
	副 査	教 授	高島 成二
	副 査	教 授	高尾 敏文
	副 査	教 授	下村 伊一郎

論文審査の結果の要旨

Leucine rich α -2 glycoprotein(LRG)は李 賢 氏 が 所属する研究室で関節リウマチの疾患活動性を評価できる血清バイオマーカーとして同定された蛋白質である。LRGはNF κ B及びSTATの2つの経路で誘導されるため様々な炎症性サイトカインで誘導されることから、IL-6依存的に肝臓でのみ発現するCRPで活動性の評価が困難な疾患においても評価に使える可能性がある。李 氏 は修士課程で、LRGは腎炎を認める全身性エリテマトーデス(SLE)モデルマウスの尿で検出され、腎臓で発現量が上昇することから、SLEの腎症状であるループス腎炎(Lupus nephritis; LN)のバイオマーカーになり得ることを報告した。しかし、LRGが腎臓においてどのような病態を反映して発現するかは未解明である。

はじめに、SLEモデルマウスにおいて、LRGは、尿蛋白質量と相関して尿中の蛋白質量が増加すること、培養尿細管上皮細胞ではIL-1 β によって誘導されることを見出した。尿蛋白は、糸球体損傷を反映する検査指標の一つであると同時に、尿細管障害を起こす原因でもある他、尿に流出する蛋白質の主成分はアルブミンであり、大量の尿蛋白質は尿細管に各種ストレスを与え、NLRP3の活性化によるIL-1 β ・IL-18の産生を通じて細胞障害を起こすことが報告されている。李 氏 は、蛋白尿による尿細管障害の研究に使用されるアルブミン負荷モデルにおいて、LRGは、アルブミン負荷後、蛋白質量が尿で上昇し、腎臓でのmRNA量も増加することを示した。また、腎組織の免疫染色では、LRGが損傷した全種類(近位、遠位尿細管および集合管)の尿細管に局在することを確認した。さらに、培養尿細管上皮細胞で、アルブミン負荷によって産生されたIL-1 β がLRGを誘導することを確認した。以上より、腎におけるLRGは、尿蛋白質が尿細管上皮細胞に作用して放出されるIL-1 β を介して尿細管上皮細胞で産生されることが示唆された。一方、LRGノックアウト(KO)マウスにアルブミン負荷をかけたが、尿蛋白や腎機能における異常を認めなかった。李 氏 は、LRGは線維化を促進する可能性があるため、腎疾患におけるLRGの役割は、腎臓の線維化を観察できるモデルマウスを用いて解析する必要があると考察した。

以上より、本研究は、多くの腎疾患の代表的症状である蛋白尿によって損傷された尿細管上皮細胞が、自ら産生するIL-1 β の刺激によりLRGを産生し、尿中に排出することを示唆し、尿中LRGは、LNを含む様々な腎疾患において尿細管障害の存在を示す尿検査のバイオマーカーとして有用である可能性を提示した。これらの成果は、腎臓の機能と腎疾患の病態の解明に寄与するもので、本論文は博士(生命機能)の学位論文として価値あるものと認められた。