

氏名(生年月日)	オオ ハシ テイ コ 大 橋 禎 子
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第2228号
学位授与の日付	平成15年9月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	<b>Intracellular mislocalization of mutant podocin and correction by chemical chaperones</b> (変異ポドシンの細胞内局在異常とケミカルシャペロンによるその是正に関する検討)
主論文公表誌	Histochemistry and Cell Biology 第119巻 第3号 257-264頁 2003年
論文審査委員	(主査) 教授 二瓶 宏 (副査) 教授 小田 秀明, 亀岡 信悟

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

常染色体劣性遺伝によるステロイド抵抗性ネフローゼ症候群の原因が、糸球体上皮細胞のスリット膜に特異的に局在するポドシン蛋白であることが明らかになった。今回我々は、すでに報告されている最も頻度の高い点突然変異である、R138Q 変異ポドシンがひきおこす生物学的作用を検討した。

### 〔対象および方法〕

野生株ポドシンはヒューマンゲノムから RT-PCR 法で作製し、ベクターにサブクローニングした。また、野生株から R138Q 変異ポドシンを作製し、全長をシークエンスして変異を確認した。OK 細胞および SV40 によりトランスフォームしたヒト糸球体上皮細胞に、野生株または R138Q 変異ポドシン遺伝子を導入し、Western Blot 法で蛋白を確認し、免疫染色を施行した。ポドシン蛋白の細胞内発現を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。さらにケミカルシャペロンとして報告されているグリセロール、TMAO、DMSO で細胞を前処置し、その効果を検討した。

### 〔結果〕

野生株ポドシンは細胞膜主体に局在し、細胞骨格であるアクチン線維とは異なった局在であった。一方 R138Q 変異ポドシンの局在は細胞質が主体で、小胞体マーカーであるカルネキシンと局在が一致した。100mM TMAO・2% DMSO で前処置後の R138Q 変異ポドシン導入細胞におけるポドシン蛋白の局在は、一部小胞体から細胞膜への是正を認めた。

### 〔考察〕

今回の *in vitro* 検討から、R138Q 点突然変異は、ポドシン蛋白の小胞体から細胞膜への輸送を障害していることが示唆された。このことから、*in vivo* で R138Q 点突然変異を持つ糸球体上皮細胞では、ポドシンが糸球体濾過機構にとって重要なスリット膜に適正に分布できない可能性があり、これがこの突然変異によっておこるネフローゼ症候群の病態であると考えた。

また、合成されたタンパク質の細胞内小器官から細胞膜への移動を促進すると報告されているケミカルシャペロンを用いたところ、R138Q 変異ポドシンの細胞内分布の是正が一部におこり、この変異が原因である先天性ネフローゼ症候群の治療への可能性が示唆された。

### 〔結論〕

R138Q 変異によるポドシン蛋白の異常は、細胞内における細胞内小器官から細胞膜への輸送障害であった。ケミカルシャペロンにより、その分布の一部の是正が可能であった。

## 論文審査の要旨

先天性ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群 (SRNS) の原因は、ポドシン蛋白をコードする NPHS2 遺伝子の異常にあり、他のネフローゼ症候群にも関与する。最も頻度の高い点突然変異、R138Q 変異ポドシンについて、構造と機能を検討した。

ヒューマンゲノムより、野生株ポドシンについて変異ポドシンを作製した。野生株ポドシンは細胞膜主体にアクチン線維と近接して局在した。変異ポドシンは主に細胞質に存在し、小胞体のマーカーであるカルネキシンと局在が一致した。

今回の検討で、R138Q 点突然変異がポドシン蛋白の小胞体から細胞膜への輸送を障害し、糸球体濾過膜機能に必要なスリット膜への適正分布を阻害し、蛋白の尿中漏出の原因となることが示唆された。さらに変異細胞をケミカルシャペロンで処理することにより、ポドシンの輸送障害を是正しうることを明らかにした。ネフローゼ症候群の解明と治療に繋がる、臨床的に極めて価値の高い論文である。