

論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨の公表

学位規則第 8 条に基づき、論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

○氏名	川口 高德 (かわぐち こうとく)
○学位の種類	博士 (薬学)
○授与番号	甲 第 1301 号
○授与年月日	2019 年 3 月 31 日
○学位授与の要件	本学学位規程第 18 条第 1 項 学位規則第 4 条第 1 項
○学位論文の題名	腎臓における ERM タンパク質の生理的役割に関する研究
○審査委員 (主査)	浅野 真司(立命館大学薬学部教授) 鈴木 健二(立命館大学薬学部教授) 桂 敏也(立命館大学薬学部教授)

<論文の内容の要旨>

腎臓は血液の濾過と体液の調節に働く器官であり、ヒトでは 100 万個ものネフロンという機能単位からなる。ネフロンは腎小体とそれに続く尿細管から構成される。腎小体の中の糸球体では血液が限外濾過され、尿細管では濾過された原尿から溶質および水が再吸収されて尿が生成する。糸球体での限外濾過には、足細胞という特殊な細胞がスリット膜と呼ばれるフィルター構造を形成し、タンパク質などの濾過障壁となる。一方、尿細管での水や溶質の吸収にはさまざまなトランスポーターやチャネルが関わることが知られている。

本研究の対象としたアクチン結合タンパク質であるエズリンおよびモエシンは、ラディキシンと共にその頭文字をとって「ERM タンパク質」と総称され、おもに上皮組織の刷子縁膜に発現して、刷子縁膜 (BBM) 上のタンパク質とアクチン細胞骨格とを架橋するほか、低分子量 G タンパク質に働いて細胞骨格構造の調節を行うことが知られている。エズリンは足細胞で高発現し、糸球体濾過に関わるものと想定されてきたが、動物個体レベルでの研究はなされていなかった。また、モエシンは尿細管のうちでヘンレループ上行脚部分に発現するが、ここでの溶質輸送における働きについては明らかでなかった。

これに対して学位申請者は、遺伝子改変によってエズリンの発現をゼロレベル近くにまで低下させたエズリンノックダウンマウス、およびモエシンのノックアウトマウスを材料として、腎糸球体の構造や濾過機能や、ヘンレループ上行脚でのタンパク質の発現・輸送について詳細な解析を行い、エズリンおよびモエシンの生理機能や、病態時の機能について検討を行った。本論文は二部構成からなり、第一部ではマウス腎臓の糸球体構造や糸球体障害におけるエズリンの働きについて、第二部ではマウス腎臓のヘンレループ上行脚部分

における主要な輸送体である $\text{Na}^+\text{K}^+2\text{Cl}^-$ 輸送体 (NKCC2) のモエシンの相互作用、機能調節について検討がなされた。第一部においては糸球体障害モデルマウスを用いて、おもに生理・生化学的手法を駆使して、(1) エズリンを欠損させても、生理的な条件下では、糸球体の足細胞の形態や濾過機能、膜タンパク質の発現分布には大きな変化が見られないこと、(2) エズリンを欠損させると、アドリアマイシンやリポ多糖投与による糸球体障害に抵抗して障害を軽減すること、(3) 低分子量 G タンパク質のうち Rac1 の発現を抑制する一方、RhoA の活性を上昇させることを明らかにした。また、第二部においては、腎臓の尿細管細胞を用いて、(1) モエシンを欠損させると、NKCC2 の脂質ラフト分画への集積が低下して、エンドサイトーシスによる細胞内への回収が低下すること、(2) NKCC2 の BBM での発現が上昇して、NKCC2 の輸送活性の上昇が見られることを明らかにした。

<論文審査の結果の要旨>

本論文は、腎臓から糸球体や尿細管細胞を単離して生理・生化学的、組織学的なアプローチや、マウス個体の尿・血清分析などの手法を駆使して、エズリンが足細胞での低分子量 G タンパク質発現に関わり、特に Rac1 タンパク質を介して糸球体病変の増悪因子として働くこと、モエシンが尿細管における NKCC2 のエンドサイトーシスに関わることを明らかにした点において新規性があり、評価できる。

本論文の審査に関しては、2019年1月25日(金)17時00分~18時15分にサイエンスコア5階会議室において公聴会を開催し、学位申請者による論文要旨の説明の後、審査委員は学位申請者に対する口頭試問を行った。各審査委員および公聴会参加者より、第一部については、エズリン欠損マウスの表現型、および致死率が高い原因や、エズリンは足細胞での生理機能はどのようなものか、という点について質疑があった。また、糸球体障害時は低分子量 G タンパク質の発現変化のみで説明できるのか否かという点に関して、他の要因についても検討することが望ましいのではという指摘がなされた。また第二部については、モエシン欠損にともなってラフトに存在する NKCC2 以外の膜タンパク質の発現分布に影響はないのか、という点について質疑があった。また、NKCC2 のエンドサイトーシス障害と細胞内分布との矛盾について質問がなされた。いずれの質問に対しても学位申請者の回答は適切なものであった。

以上により、公聴会での口頭試問結果を踏まえ、審査委員会は、本論文は本研究科の博士学位論文審査基準を満たしており、博士学位を授与するに相応しい水準に達しているという判断で一致した。

<試験または学力確認の結果の要旨>

本論文の公聴会は、2019年1月25日(金)17時00分~18時15分にサイエンスコア5階会議室において行われた。

学位申請者は、本学学位規程第18条第1項該当者であり、主査および副査は、論文内容

および公聴会での質疑応答を通して、学位申請者が十分な学識と、博士学位に相応しい能力を有していることを確認した。

以上の諸点を総合し、学位申請者川口高德に対し、本学学位規程第 18 条第 1 項に基づいて、「博士（薬学 立命館大学）」の学位を授与することが適当であると判断する。