

審査の結果の要旨

氏名 梶保 祐子

本研究は、上皮細胞が疾患によっては正常な形態から逸脱することから、(1) 腎糸球体上皮細胞（ポドサイト）の足突起の癒合を伴うネフローゼ症候群および(2) 浸潤性の乳がんを、上皮細胞の形態変化が特徴的な病態として焦点をあて、それらの形態制御に関与する機構について研究を行ったものであり、下記の結果を得ている。

(1) ポドサイトの形態変化を伴うネフローゼ症候群におけるスリット膜構成因子  $\text{SIRP}\alpha$  の研究

スリット膜分子 **signal regulatory protein** ( $\text{SIRP}$ )  $\alpha$  はスリット膜においてポドサイトの形態制御に関わるシグナル伝達に関与しているという仮説を立て研究を行った。

1. 培養細胞およびラット単離糸球体を用いて、ポドサイトの形態制御に関与することが知られている **Nephrin** と  $\text{SIRP}\alpha$  が結合することを示した。チロシンリン酸化部位の変異体を用いると、 $\text{SIRP}\alpha$  と **Nephrin** は互いのチロシンリン酸化状態に関わらず結合した。免疫組織染色では、 $\text{SIRP}\alpha$  はヒト糸球体およびラットの新生仔の糸球体において **Nephrin** と共局在を示し、発達段階から両者は密接な関係にあることが示された。
2. **Nephrin** を先天的に欠損する先天性ネフローゼ症候群症例の糸球体では、 $\text{SIRP}\alpha$  の発現はほぼ消失し、 $\text{SIRP}\alpha$  の発現に **Nephrin** が必要であることが分かった。しかし、後天的にポドサイトが傷害されたネフローゼ症候群モデルラットの糸球体では、**Nephrin** の発現は低下したが  $\text{SIRP}\alpha$  の発現は変化しなかったことから、正常に形成されたスリット膜ではその後のポドサイトの傷害によっても  $\text{SIRP}\alpha$  は保持されることが分かった。
3. ラットの正常糸球体においてはチロシンリン酸化を受けた  $\text{SIRP}\alpha$  が存在していたが、ポドサイトが傷害を受け形態変化を来したラットの糸球体では  $\text{SIRP}\alpha$  のチロシンリン酸化は蛋白尿の発症と共に減少していた。
4. 培養細胞における **Nephrin** のチロシンリン酸化は、 $\text{SIRP}\alpha$  を共発現させることで減少した。この減少は  $\text{SIRP}\alpha$  をチロシンリン酸化部位の変異体に変更すると認められず、*in vitro* の系では  $\text{SIRP}\alpha$  のチロシンリン酸化が **Nephrin** のチロシンリン酸化を抑制する可能性を示唆した。

これらから、蛋白尿の出現に伴い **SIRP $\alpha$**  のチロシンリン酸化が変化し、他の基質に影響を与えポドサイトの形態制御に関わる可能性が示唆された。

## (2)浸潤性乳がんに関与する **Rab** ファミリーのスクリーニング

浸潤をきたす乳がん細胞における細胞外基質の分解に関与する全 **Rab** ファミリーのスクリーニングを行い、同定因子の浸潤への関与について更なる解析を行った。

1. 全 **Rab** ファミリーに対する **siRNA** ライブラリーを用い、乳がん由来の細胞において細胞外基質の分解能の変化を指標にスクリーニングを行い、浸潤に寄与する可能性のある **Rab** を新規に多数同定した。続けてこれらの新規因子に対し異なる細胞における基質分解能への関与を評価した。さらに 3 次元方向への細胞外基質への浸潤への関与、および乳がんにおけるゲノムの増幅を検討し、**Rab2A** を乳がんの浸潤に関わる因子として同定した。
  2. **Rab2A** を過剰発現させると乳がん細胞の細胞外基質の分解能は亢進し、また **Rab2A** の **siRNA** の導入による分解能の低下は **Rab2A** の過剰発現によりレスキューされた。より生体内に近い細胞培養条件である 3 次元スフェロイドにおいても **Rab2A** の発現低下は周囲への浸潤を低下させ、**Rab2A** が 3 次元への浸潤においても重要であることが示された。
  3. **Rab2A** のエフェクターの発現低下によっても細胞のゼラチン分解能は低下し、**Rab2A** の下流でこれら因子が機能して浸潤に関わる可能性を示した。
- これらから、小胞輸送を制御する **Rab** ファミリーが浸潤に深く関連する可能性を示し、またその中でも **Rab2A** が浸潤に関わる重要な因子であると同定した。

以上、蛋白尿や乳がんなどの上皮細胞が正常形態から逸脱する病態に関わる複数の因子を同定し、分子機構の一端を明らかにした。本研究は疾患における上皮細胞の形態制御機構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。