

審査の結果の要旨

氏名 杉澤 良一

本研究は、腎疾患時において自己治癒機構を担っている血中タンパク質である Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) について、ネコをモデルとして解析を行ったものであり、以下の結果を得ている。

1. ネコ AIM のクローニングを行い、新たに抗ネコ AIM 抗体の樹立し、リコンビナント AIM (rAIM) の発現・精製法を確立した。クローニングおよび血中 AIM の検討から、ネコでは3つの SRCR (scavenger receptor cysteine-rich) ドメインをもつものと、4つの SRCR ドメインをもつものの 2 種類の AIM が存在することが見出された。またネコ AIM の血中濃度はヒト・マウスと比較して高濃度であった。rAIM を用いた *in vitro* 実験からは、ネコ AIM はマウス・ヒト AIM 同様に Kidney injury molecule -1 (KIM-1) 分子のリガンドであり、壊死細胞塊の取り込みを促進する機能を有することが示された。
2. ネコに両側腎動脈虚血再灌流法 (IR : ischemia / reperfusion) によって腎障害を誘導し、急性腎障害 (AKI : Acute kidney injury) モデルを作製した。この AKI モデルの血中 AIM 動態の検討から、ネコではマウス・ヒトと異なり、AIM が IgM から解離せず、血中に単量体となった AIM (Free AIM) が増加しないことが示唆された。また、同モデルの腎組織の検討から、ネコでは AIM が尿細管管腔内に到達していなかった。なお腎臓における KIM-1 の発現は正常であった。この他、自然発症 AKI ネコにおいても、同様に血中における Free AIM の増加は認められなかった。以上から、ネコでは AIM が IgM から解離しないために尿細管管腔内に AIM が到達せず、AIM を介した自己治癒機構が働かない可能性が示唆された。
3. 表面プラズモン共鳴法 (SPR : surface plasmon resonance) による解析から、ネコ AIM とネコ IgM 間の親和性は、マウス AIM - マウス IgM 間と比較して、約 1000 倍強力であることが示された。また、ネコ AIM - マウス IgM 間の親和性も強力であり、特異的な高親和性がネコ AIM に起因することが示唆された。またホモロジーモデリングによる比較解析からネコ AIM は特異的な正電荷クラスターを形成しており、実際に変異体を作製してこのクラスターを欠損させると親和性が減弱した。
4. ネコ AIM を発現する遺伝子改変マウスを作出し、これを AIM 欠損マウスと交配することで、マウス AIM を欠損し、ネコ AIM のみを発現する AIM ネコ化マウスを作出した。この AIM ネコ化マウスに IR によって AKI を誘導した結果、ネコ同様に血中での AIM の IgM からの解離は認められず、尿細管管腔内への AIM の到達も認められなかった。この AIM ネコ化マウス AKI モデルでは、野生型マウスとは異なって AKI からの回復は認められず、腎障害の増悪が認められた。すなわち、AIM と IgM の高親和性は、

AKI 時における AIM の IgM からの不解離性の要因となり、その結果 AIM を介した腎障害からの自己治癒機構を欠損させることが示された。ネコにおいても同様に治癒機構が欠損していると考えられた。また、この AIM ネコ化マウス AKI モデルに対し AIM の投与による治療効果が確認された。

以上、本論文はネコ AIM 特異的な IgM 高親和性によって、腎障害時に AIM を介した自己治癒機構が欠損することを見出した。すなわち、AIM を介した腎障害に対する治癒機構が働くためには血中での AIM の IgM からの解離が重要であることを示している。本研究は、ネコが腎障害に対して自己治癒機構の一つを欠損していることを示し、これまで不明であったネコ腎疾患の好発原因に対して新たな仮説を提示するとともに、AIM 投与の他に血中 AIM を人為的に IgM から解離を誘導できれば創薬に繋がる可能性を示唆した。これらの結果は、腎疾患の新たな治療法確立に繋がり得る重要な知見と考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。