

氏名	宮井貴之
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博甲第 4884 号
学位授与の日付	平成26年3月25日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Functional analysis of NPHS1 mutations in Japanese patients (日本人症例におけるNPHS1変異の機能解析)
論文審査委員	教授 竹居孝二 教授 大内淑代 准教授 和田淳

#### 学位論文内容の要旨

スリット膜の構成蛋白のネフリンをコードする NPHS1 遺伝子の数多くの変異が先天性ネフローゼ症候群症例から同定されている。それぞれの変異の機能解析は stable expression cell line を用いて行われてきたが、非常に時間がかかる。我々は、簡便に機能解析を行う方法として transient transfection 法と自動計数ソフトウェアを用いた方法を試み、先天性ネフローゼ症候群の日本人症例から同定された NPHS1 遺伝子変異の機能解析を行った。まず、これまでに stable expression cell line を用いて機能解析結果が報告されている変異で、我々が試みる transient transfection 法を用いた簡便法で機能解析を行い、stable expression cell line を用いた報告と一致した結果が得られ、この簡便法が機能解析に使用できることを確認した。この簡便法を用いた機能解析で日本人症例から同定された NPHS1 遺伝子変異のうち病因と考えられる変異ではネフリンの細胞表面での発現が少なく、細胞膜への輸送障害が示唆された。

#### 論文審査結果の要旨

ネフリンはポドサイト表面に局在するタンパクで、糸球体濾過機能をもつスリット膜の主要構成分子である。ネフリンをコードする NPHS1 遺伝子の変異が先天性ネフローゼ症候群の原因となることが知られているが、その変異がネフリンの分子動態に及ぼす影響について詳細は不明であった。

本研究では、先天性ネフローゼ症候群で同定された計 12 種類の変異ネフリンを HEK293 細胞および PDN8 細胞に一過性に発現させ、細胞表面および細胞内部のネフリンの局在を免疫染色法により調べるとともに、自動係数ソフトウェアを用いた形態計測により局在変化を定量化した。その結果、野生型ネフリンはほぼ 100% が細胞表面に局在したのに対して、病因と推定された変異ネフリンは細胞内から細胞膜への輸送が阻害されていることを明らかにした。

本研究は先天性ネフローゼ症候群の分子機構について新しい知見を示した点で価値ある業績である。よって本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。