

学位論文題名

napsin の細胞局在および尿細管における
蛋白質異化への関与

学位論文内容の要旨

napsin は、腎臓の生理的機能を担う新規のアスパラギン酸プロテアーゼとしてマウス腎臓から単離され、その後ヒトやラットにおいてもホモログの存在が確認された。ヒト *napsin* については、腎臓と肺に発現する *napsin A* と脾臓に発現する *napsin B* の 2 つのアイソフォームの存在が明らかになっており、そのうち *napsin B* は機能的なプロテアーゼをコードしない偽遺伝子であるとみられている。3 種の動物種いずれにおいても、*napsin* の発現は腎臓、肺、および脾臓に局限した特徴的な分布を示すことから、既知のアスパラギン酸プロテアーゼとは異なる機能が予想されている。しかしながら、mRNA および蛋白質レベルにおける *napsin* 発現細胞の詳細な分布様式は未だ解析が不十分であり、細胞内局在についての超微形態学的な報告はない。また、*napsin* の機能解析についても *in vitro* によるものがほとんどであり、*in vivo* での生理的役割は未だ不明である。本研究では、マウス *napsin* の詳細な局在を *in situ* hybridization および免疫組織化学により明らかにした。また、*napsin* は腎臓に最も豊富に発現することから、蛋白尿惹起モデルラットを用いて蛋白質異化における *napsin* の関与について検討した。

in situ hybridization 法により、マウス成体の腎臓において *napsin* mRNA の強いシグナルが近位直尿細管に、中等度の発現が近位曲尿細管に検出された。肺においては、Ⅱ型肺胞上皮細胞でのみ発現していた。脾臓では、B リンパ球が豊富に存在するリンパ小節および辺縁帯において mRNA の発現がみられた。リンパ節やパイエル板も脾臓と同様の発現様式を示したが、これら組織の T リンパ球依存領域や胸腺はシグナルを欠いていた。胎生期あるいは出生直後においても、成体同様の選択的な *napsin* mRNA の発現が各組織で認められた。これらの所見は *napsin* が、胎生期から重要な機能を担うことを示唆するものである。

免疫組織化学において、*napsin* の免疫反応は近位尿細管上皮のリソソームおよびⅡ型肺胞上皮細胞の層板小体で明瞭に検出された。肺の免疫反応は、肺胞マクロファージのリソソームとⅠ型肺胞上皮表面においても観察された。これら 2 種の細胞では *napsin* mRNA は発現していないことから、Ⅱ型肺胞上皮細胞から分泌された *napsin* の取り込みおよび付着による陽性反応と思

われる。一方、napsin mRNA の強い発現が認められた B リンパ球は、napsin の免疫反応を示さなかったので、リンパ性器官では蛋白質に翻訳されていないと理解された。puromycin あるいは doxorubicin による蛋白尿惹起により、近位尿細管における napsin mRNA の発現は著しく亢進し、それぞれ特徴的な発現パターンを示した。蛋白尿を呈したラット腎臓の免疫組織化学では、protein absorption droplet と呼ばれる、密集し膨化したリソソームにおいて強い napsin 陽性反応を検出した。これらの所見は、近位尿細管において napsin がリソソーム酵素として機能し蛋白質異化に関与することを示唆する。

本研究により、特定の細胞における napsin の発現が明らかとなり、また腎臓において、その機能の一端に迫ることができた。Ⅱ型肺胞上皮細胞での役割については推測の域を出ないが、腎臓と同様、サーファクタントプロテインの産生など蛋白質の代謝過程において重要な機能を担うことが予想される。本所見を元に、napsin についての生化学および生理学的解析が進めば、その機能の詳細が明かされるであろう。napsin が高等動物における代表的なアスパラギン酸プロテアーゼの一員として重要な位置を占め、病態解明の糸口になることが期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 葉 原 芳 昭
副 査 教 授 岩 永 敏 彦 (医学研究科)
副 査 教 授 斉 藤 昌 之
副 査 助 教 授 橋 本 善 春

学 位 論 文 題 名

napsin の細胞局在および尿細管における 蛋白質異化への関与

napsin は、腎臓の生理的機能を担う分子として同定された、新規のアスパラギン酸プロテアーゼである。本研究は、マウスおよびラット napsin の詳細な局在を明らかにするとともに、蛋白質異化における napsin の関与を検証する目的で行われた。

in situ hybridization 法により、腎臓において napsin mRNA のシグナルが近位尿細管に検出された。肺においては、Ⅱ型肺胞上皮細胞でのみ発現していた。脾臓などのリンパ性器官では、B リンパ球に mRNA の発現がみられた。胎生期あるいは出生直後においても、成体同様の発現が各組織で認められ、napsin が胎生期から重要な機能を担うことが示唆された。

免疫組織化学において、napsin の免疫反応は近位尿細管上皮のリソソームおよびⅡ型肺胞上皮細胞の層板小体で明瞭に検出された。肺の免疫反応は、肺胞マクロファージのリソソームとⅠ型肺胞上皮細胞の表面においても観察された。これら2種の細胞では napsin mRNA は発現していないことから、Ⅱ型肺胞上皮細胞から分泌された napsin の取り込みおよび付着による陽性反応と思われる。一方、mRNA 発現が認められた B リンパ球は、napsin の免疫反応を示さなかったため、リンパ性器官では蛋白質に翻訳されていないと理解された。薬物による蛋白尿惹起により、近位尿細管における napsin 発現は著しく亢進し、密集し膨化したリソソームにおいて強い napsin 陽性反応を検出した。このことから、近位尿細管において napsin がリソソーム酵素として機能し、蛋白質異化に関与することが示唆された。

以上の結果は、napsin の局在を明らかにし、その未知の機能に迫ったもので、生体内の蛋白質異化および代謝に関わる本酵素の機能の全容解明に大きく貢献するものである。よって審査員一同は、森浩志氏が博士（獣医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。