

自己免疫性糸球体腎炎モデルマウスの解析

－ MRL/MpJ マウス由来の第 1 染色体テロメア領域に原因遺伝子を求めて－

学位論文内容の要旨

自己免疫性糸球体腎炎は全身性自己免疫疾患に合併し、主として血中を循環する免疫複合体が糸球体に沈着することで発症する。これまで数種の疾患モデルマウスを用いて、第 1 染色体テロメア領域に複数の自己免疫性糸球体腎炎原因遺伝子座の存在が報告されている。本研究では、自己免疫疾患モデルマウスである MRL マウス由来第 1 染色体テロメア領域を有するコンジェニックマウスを作出し、自己免疫性糸球体腎炎モデルとしての有用性の確認、本症の病態解析、原因因子および増悪因子の検索を行った。

C57BL/6 マウスと(C57BL/6 X MRL/MpJ) F1 マウスとの戻し交配を繰り返し、マイクロサテライトマーカーを用いたジェノタイピング法によって、第 1 染色体テロメア領域(82-100 cM)のみが MRL マウス型ホモであるコンジェニックマウス(B6.MRLc1(82-100))を作出した。B6.MRLc1(82-100)マウスの病理組織学的解析において、6 ヶ月齢から軽度の糸球体腎炎が認められた。糸球体傷害はとくに雌で重篤で、糸球体の増殖性病変および膜性病変は加齢性に増悪した。その他に、脾臓重量、血中尿素窒素(BUN)および抗 double strand DNA (dsDNA)抗体濃度の増加が認められたことより、B6.MRLc1(82-100)マウスは自己免疫性糸球体腎炎を発症し、その原因遺伝子は第 1 染色体約 82-100cM に座位することが明らかとなり遺伝子座を MRL autoimmune glomerulonephritis (*Mag*)と命名した。

原因遺伝子の存在領域をさらに狭めるため、*Mag* の一部を有するコンジェニックマウスを新たに 3 系統(B6.MRLc1(82-86, 92-100, 100))作出し比較解析した結果、B6.MRLc1(92-100)マウスにのみ免疫複合体の沈着を伴う糸球体傷害ならびに脾臓重量、血中 dsDNA 抗体濃度、血中 BUN 濃度および尿中アルブミン排出の増加が認められた。このことより、自己免疫性糸球体腎炎原因遺伝子の存在領域は 92-100cM に狭められた。

当該領域の原因遺伝子候補として、Fc receptor IgG low affinity IIB (*Fcgr2b*)および *Fcgr3* の mRNA 発現を検討した結果、腎臓、脾臓および胸腺で *Fcgr3* / *Fcgr2b* 比

の上昇が認められ、コード蛋白質である抑制型 $\text{Fc}\gamma\text{RIIB}$ および活性化型 $\text{Fc}\gamma\text{RIII}$ は腎糸球体メサンギウム領域に強く局在した。これより、第1染色体約 92.3cM に存在する抑制型および活性化型 $\text{Fc}\gamma\text{R}$ 遺伝子は原因遺伝子の候補と考えられ、両遺伝子のバランス変化が自己免疫性糸球体腎炎の病理発生に深く関与することが強く示唆された。

次に、B6.MRLc1(82-100)マウスの雌雄差の一因として性ホルモンの影響に着目し、性腺摘出術を施し解析した。その結果、去勢雌は正常化した。去勢雄は自己免疫性糸球体腎炎を発症した。このことから、B6.MRLc1(82-100)マウスの自己免疫性糸球体腎炎の病態の雌雄差は、雄性ホルモンの病態抑制作用の影響を強く受けることが示唆された。

さらに、B6.MRLc1(82-100)マウス腎臓において、発現が上昇している炎症性メディエーターを PCR array 法で網羅的に解析し、増悪因子の同定を試みた。その結果、*Cxc15* ならびに *Il1f6* 発現が C57BL/6 に比較して高値を示し加齢性に増加するとともに、免疫組織化学的に前者は糸球体上皮細胞に局在し、後者は遠位尿細管から集合管に強く分布した。このことから、*Cxc15* および *Il1f6* はそれぞれ糸球体局所および尿細管間質における病変の増悪因子として重要な役割を果たすことが示唆された。

結論として、本モデルマウスの解析によって、ゲノムに由来する自己免疫性糸球体腎炎原因遺伝子、性ホルモンおよび腎局所における病態増悪因子の量的変化が本症の病理発生に深く関与していることが明らかとなった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 昆 泰 寛
副 査 教 授 梅 村 孝 司
副 査 教 授 稲 葉 睦
副 査 准教授 佐々木 宣 哉

学 位 論 文 題 名

自己免疫性糸球体腎炎モデルマウスの解析

－ MRL/MpJ マウス由来の第 1 染色体テロメア領域に原因遺伝子を求めて－

本研究では、自己免疫疾患モデルマウスである MRL/MpJ マウス由来第 1 染色体テロメア領域を有するコンジェニックマウスを作出し、自己免疫性糸球体腎炎(AIGN)モデルとしての有用性を明らかにし、原因因子および増悪因子の検索を行った。

C57BL/6 マウスと(C57BL/6 x MRL/MpJ) F1 マウスとの戻し交配を繰り返し、第 1 染色体テロメア領域(82-100 cM)のみが MRL 型ホモである (B6.MRLc1(82-100)) マウスを作出した。本マウスは病理組織学的に 6 ヶ月齢から糸球体病変を示し、とくに雌で重篤で加齢性に増悪した。脾臓重量、血中尿素窒素および抗二本鎖 DNA 抗体濃度の増加が認められたことより、本マウスは AIGN を発症することが証明された。

新たに作出した B6.MRLc1(92-100)マウスでも AIGN が発症したことより、原因遺伝子座は 92-100 cM に狭められた。当該領域の原因遺伝子候補として、Fc receptor IgG low affinity IIB (*Fcgr2b*)および *Fcgr3* の mRNA 発現を検討した結果、腎臓、脾臓および胸腺で *Fcgr3* / *Fcgr2b* 比の上昇が認められ、コード蛋白質である抑制型 $\text{Fc}\gamma\text{RIIB}$ および活性化型 $\text{Fc}\gamma\text{RIII}$ は腎糸球体メサンギウム領域に局在した。これより、両 $\text{Fc}\gamma\text{R}$ のバランス変化が AIGN の病理発生に関与することが示唆された。

次に、B6.MRLc1(82-100)マウスの雌雄差の一因として性ホルモンの影響に着目し、性腺摘出術を施し解析した。その結果、去勢雌は正常化したが、去勢雄は AIGN を発症した。このことから、本症は、雄性ホルモンの病態抑制作用の影響を強く受けることが示唆された。

さらに、B6.MRLc1(82-100)マウス腎臓を PCR array 法で網羅的に解析し、増悪因子の同定を試みた。その結果、*Chemokine (C-X-C motif) ligand 5 (Cxcl5)*ならびに *Interleukin 1 family, member 6 (Il1f6)*発現が高値を示し、前者は糸球体上皮細胞に局在し、後者は遠位尿細管から集合管に分布した。このことから、*Cxcl5* および *Il1f6* はそれぞれ糸球体および尿細管間質における病変増悪因子として重要であることが示唆された。

結論として、本モデルマウスの解析によって、AIGN 原因遺伝子座、性ホルモンおよび病態増悪因子の量的変化が本症の病理発生に深く関与することが明らかとなった。

よって、審査委員一同は、上記博士論文提出者 市居 修氏 の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規程による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。