HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	腎移植の慢性抗体関連拒絶における新規尿中診断バイオマーカー、治療ターゲットORM1についての研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	樋口, はるか
Description	配架番号：2401
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13022号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70546
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Haruka_Higuchi_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　樋口　はるか

	主査	准教授　北村　秀光
審査担当者	副査	教　授　清水　伸一
	副査	教　授　有賀　　正
	副査	教　授　豊嶋　崇徳

学 位 論 文 題 名

腎移植の慢性抗体関連拒絶における新規尿中診断バイオマーカー、
治療ターゲットORM１についての研究
(Urinary ORM1 as a noninvasive biomarker and a therapeutic target for chronic active antibody mediated rejection in kidney allograft)

申請者は、移植腎機能喪失の原因となる慢性抗体関連拒絶反応（chronic active antibody mediated rejection: CAAMR）の診断と治療方法の確立を目的として研究を行った。非免疫細胞におけるNF-κB経路とSTAT3経路の活性化およびIL-6など炎症性メディエーターの発現・産生レベルを検討するとともに、病態形成の起点となるInflammation amplifier（IA）とCAAMRとの関連、尿細管でIAを活性化させるORM1の関与について検証した。

審査にあたり、まず副査の清水伸一教授から CAAMR の診断方法についての質問があり、申請者は CAAMR の疾患について、生検組織での組織学的な変化が診断基準となっていること、また早期に生検以外の方法を確立することが課題の一つであると回答した。また、ORM1に着目した経緯についての質問があり、網羅的解析を行った先行研究において、IA の positive regulator の候補遺伝子の一つであったこと、また本研究で腎臓の細胞を使用し、実際にIAを活性化させる条件にて発現増強する遺伝子を選定し、さらに尿での検出が可能かどうかを検証することで、ORM1 を同定するに至ったと回答した。また、CAAMR でありながら尿中ORM1が低い患者が存在する理由についての質問があり、申請者はCAAMRの病態は、糸球体内血管の病変が主体であるが、糸球体に障害が生じる、より早い段階において、尿細管で生じる炎症によって尿細管から分泌されているORM1を検出するため、CAAMRの病態の進み方の程度による差が生じたのではないかと考えていると回答した。次に、副査の有賀正教授からは抗体関連拒絶は腎臓特異的に認められるかどうか、およびその抗原についての質問があり、申請者は腎臓で特別に認められるものではく、肝臓では免疫寛容が生じる場合があること、抗原についてはドナーの HLA が想定されると回答した。さらに、抗体が起因となり、IAへと至る制御メカニズムについての質問に対しては、起因としては炎症・免疫細胞による応答を考え、また炎症応答を惹起するシグナル関連分子の一つとして NF-

κB を想定し、その下流制御分子が病態に関与すると考え、その阻害が治療にも繋がる可能性があると回答した。また網羅的検索で得られた 1200 の候補遺伝子の中から ORM1 を選択した理由に関する質問があり、前述と同様の回答をした。また ORM1 がどのような状況で発現誘導されるのか、さらに実験系に ORM1 を添加することにより炎症がさらに強くなるかどうかについての質問があり、申請者は尿細管自身が ORM1 を分泌している可能性を考えていると回答した。さらに、上流での機能制御に関する質問に対しては、申請者は上流の候補レセプターとして報告のあるものを阻害する実験も行ったが明確ではなく、引き続き、検討する必要があると回答した。副査の豊嶋崇徳教授からは、単著論文であるため、主語の表現の修正、本文中の誤字の訂正、慢性拒絶と IF/TA の病態の概念の違いについての加筆の必要性、および尿中 ORM1 が慢性抗体関連拒絶患者で高いデータは、蛋白が漏出している状況を示唆する可能性についてコメントがあった。IL-6 の関与から、アクテムラ（トシリズマブ）の投与による拒絶の予防効果の可能性に関する質問に対しては、申請者は既に報告レベルでは CAAMR に対してアクテムラが使用されていること、またその作用機序については解明されていないと回答した。最後に主査の北村秀光准教授から、ヒト臨床検体を使用した検討において、免疫抑制や抗炎症治療の有無による影響についての質問があり、申請者は全員が免疫抑制剤を使用しているが、CAAMR 患者では治療として既にステロイドパルスを行っている患者を含むと回答した。また、マウスの関節炎モデルにおける尿中の ORM1 レベルおよび刺激の dose の検討に関する質問に対しては、申請者はマウスの尿の測定や dose の違いによる検証は行っていないと回答した。ORM1 の受容体の尿細管細胞での発現と病態への関与、およびヒト腎組織での発現に関する質問に対して、申請者は尿細管細胞での受容体の阻害実験では有為な結果が得られず、ヒト腎組織における発現の確認は行っていないと回答した。また本研究成果を基盤とした臨床応用に関する質問に対しては、ORM1 に対する抗体を使用した中和・阻害が、今後の治療戦略の一つとして考えられると回答した。

この論文は、ORM1 が腎尿細管細胞で IA を活性化するとともに、CAAMR 患者の尿中で高いことを証明し、ORM1 が CAAMR の早期診断バイオマーカーとして有望であること、ORM1 を介した IA の制御が治療ターゲットとなる可能性を示した点において高く評価され、今後、腎移植における慢性抗体関連拒絶の予防、治療への応用に寄与することが期待される。審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。