

学位授与番号：甲 1093 号

氏 名：神崎 剛

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 31 年 2 月 27 日

学位論文名：

**Impact of anti-glomerular basement membrane antibodies and glomerular neutrophil activation on glomerulonephritis in experimental myeloperoxidase antineutrophil cytoplasmic antibody vasculitis.**

（MPO-ANCA 関連血管炎モデルにおける抗糸球体基底膜抗体の効果と好中球の活性化）

学位論文審査委員長：教授 大野岩男

学位論文審査委員：教授 斎藤三郎 教授 黒坂大太郎

# 論文要旨

氏名	神崎 剛	指導教授名	横尾 隆
----	------	-------	------

## 主論文

Impact of anti-glomerular basement membrane antibodies and glomerular neutrophil activation on glomerulonephritis in experimental myeloperoxidase antineutrophil cytoplasmic antibody vasculitis.

(MPO-ANCA 関連血管炎モデルにおける抗糸球体基底膜抗体の効果と好中球の活性化)

Go Kanzaki, Shinya Nagasaka, Seiichiro Higo, Yusuke Kajimoto, Takafumi Kanemitsu, Michiko Aoki, Kiyotaka Nagahama, Yasuhiro Natori, Nobuo Tsuboi, Takashi Yokoo, Akira Shimizu.

Nephrology Dialysis Transplantation. 2016 Apr;31(4):574-85

## 要旨

### 【背景・目的】

ANCA 関連血管炎は半月体形成を主体とする急速進行性糸球体腎炎を発症し高率に末期腎不全を来たす疾患である。その発症機序には ANCA による好中球の異常活性化と血管内皮細胞障害が挙げられているが、半月体形成の進展および増悪機序については未だ十分に解明されていない。本研究は MPO-ANCA 関連血管炎モデルラットを用いて、MPO-ANCA 関連腎炎における半月体形成の増悪因子について検討した。

### 【方法】

近交系雄性 WKY ラットを用い、精製したヒト MPO (hMPO) 蛋白を完全フロイントアジュバント (結核死菌追加) と百日咳菌毒素とともに免疫した。モデルは免疫 8 週後に屠殺し、腎機能、腎病理像、糸球体内の好中球発現と好中球細胞外トラップ (neutrophil extracellular traps : NETs) 形成、糸球体内サイトカイン発現量 (定量 RT-PCR)、血中サイトカイン濃度を検討した。さらに hMPO 追加免疫群、好中球活性化群 (TNF- $\alpha$ , G-CSF)、sub-nephritogenic anti-GBM Ab 投与群を設け、半月体形成糸球体腎炎の増悪を試みた。また *in vitro* においてモデルラットに誘導された anti-hMPO Ab と好中球の活性化について検討した。

### 【結果】

ANCA titer に差はなかったものの、sub-nephritogenic anti-GBM Ab 投与群において尿所見および半月体形成率の増悪を認めた。その血清では炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$ , 好中球ケモカイン CXCL1, CXCL2 の上昇が認められ、糸球体内でも好中球の異常活性化と NETs 形成、TNF- $\alpha$ , CXCL1, CXCL2, CXCL8 の発現上昇が認められた。*in vitro* の検討では精製 anti-hMPO Ab による好中球の活性化 (TNF- $\alpha$ , IL-18 の上昇) および好中球ケモカイン受容体 CXCR1, CXCR2 の発現低下を認めた。

### 【結論】

半月体形成糸球体腎炎の進展および増悪には炎症性サイトカインや好中球ケモカイン発現上昇を始めとした糸球体内の炎症環境と異常活性化した好中球が血管内で留まるための好中球ケモカイン受容体の発現低下が関わると考えられた。

## 学位論文審査結果の要旨

神崎剛氏の学位申請論文は主論文 1 編からなり、原題は「Impact of anti-glomerular basement membrane antibodies and glomerular neutrophil activation on glomerulonephritis in experimental myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody vasculitis」、日本語題名は「MPO-ANCA 関連血管炎モデルにおける抗糸球体基底膜抗体の効果と好中球の活性化」である。本研究は腎臓・高血圧内科 横尾 隆教授の指導により実施され、Nephrol Dial Transplant 誌 2016; 31 巻 574-585 ページに掲載されたものである。

以下に審査委員会における審査結果を記載する。

平成 31 年 1 月 29 日、審査委員長 大野岩男、審査委員 齋藤三郎教授、黒坂大太郎教授および指導教授である横尾 隆教授の臨席のもとに公開学位審査会を実施した。神崎氏の研究概要の発表に続いて、口頭試験を実施した。口頭試験において以下のとおり質疑応答を行った。

- 1) 抗 MPO 抗体は好中球表面に付着するのか。
- 2) 抗 MPO 抗体価があまり高くないので、半月体形成率が少ないのではないのか。
- 3) MPO には多型性があるのか。
- 4) 本研究と他の研究者の研究との違いは何か。
- 5) 抗 GBM 抗体型腎炎の特徴は何か。
- 6) ANCA 関連血管炎のサブタイプの発症率が本邦と外国で違うのはどのように考えられているのか。
- 7) 投与した抗 GBM 抗体投与量は sub-nephritogenic dose といえるのか。
- 8) 腎組織において半月体形成部位において NETs 形成がみられるとあって良いのか。
- 9) sub-nephritogenic anti-GBM 抗体群を内皮細胞傷害群とあって良いのか。

これらを含む多くの質問に対して、神崎氏は適切に回答するとともに、関連する知見について幅広く意見を述べ実りある討議がなされた。その後、審査委員において慎重に審議した結果、神崎氏の研究は、ANCA 関連血管炎の半月体形成の進展・増悪には、炎症性サイトカインや好中球ケモカインの発現上昇をはじめとした糸球体内の炎症環境と異常活性化した好中球が血管内で留まるための好中球ケモカイン受容体の発現低下が関与しているとの知見を示した貴重な実験研究であるとの結論となった。

ここに我々審査委員は、神崎氏の研究内容を学位論文として十分に価値があるものと認定した次第である。

なお、テーシスおよび論文要旨において一部誤記が認められたが、後日適切に修正がなされていることを確認した。