

培養腎糸球体上皮細胞を用いたネフローゼの新規治療薬の模索

木野仁郎、北尾哲也、山内壮作、木全貴久、辻章志、金子一成

関西医科大学 小児科学講座

目的

小児のネフローゼ症候群の多くが、組織学的に明らかな異常のない微小変化型ネフローゼ症候群(Minimal Change Nephrotic Syndrome: MCNS)である。MCNSの病因はいまだ不明であるが、長年「リンパ球、特にT細胞の機能異常」にあるとされ、この病因論に基づき、MCNSに有効性を示すステロイド薬や免疫抑制薬の主たる作用も、T細胞機能異常の是正であるとされていた。近年MCNSの病態は腎糸球体上皮細胞(ポドサイト)の構造変化であり、ステロイド薬や免疫抑制薬は、リンパ球ではなく、ポドサイトの構造変化を直接防ぐ事によって効果を発揮するという考え方が提唱され、様々な研究が行われている。その一つに、MCNSではポドサイト表面にCD80が過剰に発現しており、過剰に発現したCD80によりポドサイトの構造変化が引き起こされ、結果として蛋白尿が惹起されるという報告もある。そこで、この仮説の妥当性を、培養ポドサイトを用いて明らかにすることを本研究の目的とする。

材料と方法

分化させたヒト培養ポドサイトを用いて、puromycin aminonucleoside(PAN)を投与することで、ポドサイト表面にCD80が過剰に発現しているかを検討する。

近年、炎症のモジュレーターとして開発された関節リウマチの治療薬がポドサイト表面に過剰発現したCD80を抑制しうるか否かを検討する。すなわち、PANを投与したヒト培養ポドサイトに、免疫反応における重要な転写因子であるNF- κ Bを阻害し、炎症性サイトカインの産生を抑制するイグラチモドを投与し、CD80の発現が抑制できるかどうかを検討する。

培養方法：凍結保存していたヒト培養ポドサイトを起こし、培地用量は5mlとして3日間毎に培地を交換しながら、33°Cで7日間インキュベートする。Dish内の約8割程度を占めていることを確認し、5日間かけて37°Cで分化させる。

薬剤の投与：分化させたヒト培養ポドサイトに、PAN投与1時間前にイグラチモドを30 μ g/ml投与し、その後PAN 40 μ g/ml投与を行う。

ポドサイト障害の検討：PAN投与から24時間後に、ヒト培養ポドサイトを回収する。回収後、mRNAの抽出を行い、ポドサイト構造蛋白(ポドシン、シナプトポディン)とCD80の変化をmRNAレベルで確認する。同時に免疫蛍光染色で染色し、ポドシン、シナプトポディンの染色性の変化を検討する。

考察

ステロイド薬を用いた治療は長期化することも多く、副作用が懸念されるため、本研究によってMCNSの病因論がCD80を介したポドサイト構造変化であることが明らかにできれば、CD80の発現抑制を標的としたMCNSの新たな治療戦略を確立できると考えられる。