

氏 名	こま だ たかのり 駒 田 敬 則
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	甲第 475 号
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 18 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	腎疾患におけるインフラマソームの役割の解明
論文審査委員	（委員長）教授 荻 尾 七 臣 （委 員）教授 田部井 薫 講師 永 谷 勝 也

論文内容の要旨

1 研究目的

慢性腎臓病（CKD）は治療困難な慢性進行性疾患である。腎機能が悪化した多くの CKD 患者が透析療法や腎移植を必要とし、本邦でも国民の健康と医療経済上、大きな問題となっている。多彩な原疾患をもつ CKD の進展における共通病態として、尿細管間質の慢性炎症・線維化が重要と考えられている。

近年、インフラマソームと呼ばれる新たな自然炎症経路が、痛風や 2 型糖尿病など様々な疾患で無菌性炎症に関与することが分かってきた。NLRP3 インフラマソームは、Nod 様受容体である Nod-like receptor family pyrin domain-containing 3（NLRP3）、アダプター分子である Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain（ASC）、および Caspase-1 によって構成される蛋白質複合体であり、強力な炎症性サイトカインであるインターロイキン（IL）1- β を活性型に切断して炎症惹起に関与する。ことに、マクロファージなどの炎症細胞における NLRP3 インフラマソーム活性化が知られている。CKD でも無菌性炎症の関与が考えられ、CKD 進展の炎症病態におけるインフラマソームの役割を検討するために、構成分子の一つ ASC に着目して解析を行った。

2 研究方法

代表的な CKD モデルである片側尿管結紮（UUO）を作製し、野生型（WT）と *Asc* 欠損マウスを用いて、UUO 腎における炎症惹起・線維化の病態を解析した。また、腎由来の初代細胞を用い、腎局在細胞でのインフラマソーム活性化能を検討した。

3 研究成果

WT マウスにおける UUO 腎では、*Nlrp3*、*Asc*、*Casp1*、*Il1b* の遺伝子発現が経時的に増加し、NLRP3 インフラマソームの関与が示唆された。*Asc* 欠損マウスでは、WT に比し UUO 腎の腎傷害・線維化が有意に軽減した。また、*Asc* 欠損マウスの UUO 腎では、炎症細胞浸潤、炎症性サイトカインの遺伝子発現上昇も有意に抑制された。免疫組織化学染色による検証で、UUO 腎の集合管に ASC 発現増加が認められた。マウス初代集合管細胞（CD 細胞）に、傷害組織由来物質の

ひとつである細胞外 ATP を添加したところ、活性型 Caspase-1 の上昇および活性型 IL-1 β 分泌が認められた。*Asc* 欠損、細胞外 ATP 受容体阻害薬、細胞外 K⁺流出阻害、抗酸化剤でこの活性化を抑制することができ、CD 細胞において P2X₇ 受容体・K⁺流出経路・酸化ストレス経路を介したインフラマソーム活性化が示唆された。

4 考察

NLRP3 インフラマソームによる Caspase-1 の活性化には ASC が必須であるとされている。本研究により、ASC が UUO 腎の炎症・線維化に重要な役割を持つことが示され、CKD 進展の病態に NLRP3 インフラマソーム形成が関与していることが考えられた。また、UUO 腎の集合管細胞で ASC の発現上昇が見られ、CD 細胞において細胞外 ATP による Caspase-1 活性化と活性型 IL-1 β 分泌が認められた。これらの結果から、集合管は NLRP3 インフラマソーム活性化の場の一つであり、CKD においても集合管細胞が炎症惹起に働きうると考えられる。以上より、従来、水・電解質・酸塩基平衡調節に働くとされてきた集合管が、自己内在性の危険信号を認識し、NLRP3 インフラマソームを介して炎症を惹起するという新たな機能が示された。集合管細胞が、CKD の慢性炎症のイニシエーターとして重要な役割を持つ可能性がある。

5 結論

NLRP3 インフラマソームおよびその構成分子の ASC が腎の炎症・線維化に関与し、治療困難な CKD の新たな治療標的として期待される。

論文審査の結果の要旨

本研究は集合管より逆行性に圧負荷がかかる片側性尿細管結紮（UUO）モデルを用いて、NLRP3 インフラマソーム構成要素である Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (ASC) の欠損マウスと野生型を比較することにより、インフラマソームが集合管の炎症へ関与することを明らかにした。さらに、マウス初代集合管細胞で細胞外 ATP の添加により引き起こされる活性型 IL-1 β の分泌亢進が、ASC 欠損、細胞外 K⁺流出阻害、抗酸化薬で抑制されることを示し、集合管炎症におけるインフラマソーム活性化の重要性を明らかにしており、学位論文は申し分ない。

最終試験の結果の要旨

発表内容ならびに質疑への回答は申し分なく、審査会は全員一致で合格とした。
質疑、ならびに審査過程では、下記の事項が議論された。

1) 5/6 腎摘モデルや、高血圧や糖尿病の腎障害モデルなど、ヒトの CKD の原因疾患としてより頻度が高い一般的モデルでの検討、2) 実際にヒトの CKD 患者の腎生検標本を用いた検討の受容性が指摘された。つまり、本研究が UUO モデルで明らかにした所見が、どの程度、ヒト CKD の病態に関与するかを突き詰め、新規の尿中バイオマーカーの探索研究につながれば、さらに大きな臨床への貢献につながることが期待される。