

[課程－ 2 ]

審査の結果の要旨

氏名 前川 洋

本研究は自然免疫において重要な役割を担っているcGAS-STING経路のシスプラチン腎症における役割を明らかにするために、ヒト近位尿細管細胞株HK-2、野生型C57BL/6マウスと同背景のSTING KOマウスを用いて、シスプラチン投与実験を行った。その解析により以下の結果を得ている。

①C57BL/6 マウスにシスプラチン 25mg/kg を腹腔内投与したシスプラチン腎症モデルマウス（72 時間後）を用いた検討を行い、尿細管障害と BUN の上昇を認めた。腎皮質の cGAS と STING の発現の亢進、cGAS-STING 経路下流分子 TBK1, p65 の活性化(リン酸化の亢進)、IL-6、CXCL10、ICAM-1、GM-CSF の遺伝子発現亢進が認められた。STING KO マウスではシスプラチンによる尿細管障害が機能的、組織学的に改善しており、さらに皮質における炎症性サイトカインの誘導と好中球の浸潤も軽減していることが示された

②HK-2 へのシスプラチン添加実験で、cGAS, STING の発現及び TBK1, p65 のリン酸化が亢進していた。さらにシスプラチンにより STING が核周囲に集積し、一部がゴルジ体と共局在していることが示された。knock down により、シスプラチンによる TBK1, p65 のリン酸化が抑制された。これらのことからシスプラチンは腎尿細管細胞において cGAS-STING 経路を活性化することが示された。

③HK-2 へのシスプラチン添加実験で、培養上清中の IL-6、IL-8、ICAM-1、GM-CSF が増加しており、mRNA レベルでも同様の結果を得た。さらに STING knock down により、これらの炎症性サイトカインの誘導が抑制された。さらに同様の培養上清を用いて好中球の遊走能を評価したところ、STING knock down で遊走が抑制されていた。これらのことからシスプラチンによる cGAS-STING 経路の活性化は炎症性サイトカイン産生と好中球遊走を誘導することが示された。

④HK-2 へのシスプラチン添加実験で、細胞質にミトコンドリア DNA が漏出していることがわかった。エチジウムブロマイドによる前処置でミトコンドリア DNA が減少した HK-2 を構築し、シスプラチンを負荷したところ TBK1, p65 のリン酸化が改善し、炎症性サイトカインの誘導も抑制された。さらに抽出したミトコンドリア DNA を HK-2 にトランスフェクションしたところ、TBK1, p65 のリン酸化、炎症性サイトカインの誘導が認められ、これらが STING

knock down で抑制された。よって、ミトコンドリア DNA がシスプラチンによる cGAS-STING 経路の活性化におけるリガンドとなっていると考えられた。

以上、本論文は①STINGの抑制によるシスプラチン腎症改善効果と②シスプラチン腎症において尿細管障害で細胞内に漏出したミトコンドリアDNAがcGAS-STING経路を活性化し、炎症反応を惹起するという機序を示した。本研究は新しい尿細管における炎症誘導の機序を解明し、cGAS-STING経路への介入が急性腎障害の治療ターゲットになることを示していることから、学位の授与に値するものと考えられる。