

審査の結果の要旨

氏名 那須 かほり

本研究はマクロファージにおいて Hypoxia inducible factor (HIF)を活性化すると報告されている分子である Munc18-1-interacting protein 3 (Mint3)と腎線維化の関係を明らかにすることを目的としている。Mint3 ノックアウト(KO)マウスを用いて腎線維化モデルを作成し、さらに尿細管上皮細胞に着目し、培養近位尿細管上皮細胞株である mouse cortical tubular cell (MCT)を用いて Mint3 や Factor inhibiting HIF-1 (FIH)を siRNA でノックダウン(KD)する系で尿細管上皮細胞における Mint3 の機能解析を試みており、下記の結果を得ている。

1. マウスを用いた検討で、片側虚血再灌流傷害(uIRI)24時間後の急性期の傷害は KO マウスとコントロールである同胞の野生型マウスとの間で差はなかったが、uIRI 7 日後の KO マウスの傷害腎では同胞の野生型マウスと比較し、線維化の有意な増悪と、PTC の有意な減少、尿細管上皮細胞のアポトーシスの有意な増加が示された。別の腎線維化モデルである片側尿管閉塞(UUO)モデルでは KO マウスでの線維化の増悪は認めなかった。
2. マクロファージ特異的な Mint3 KO マウスではコントロールのマウスと比較し uIRI による腎線維化の増悪を認めなかった。
3. 免疫組織染色で腎臓において Mint3 は尿細管上皮細胞を中心にユビキタスに発現していた。
4. MCT を用いた検討で、HIF 下流遺伝子である代表的な血管新生因子 VEGF の発現は低酸素刺激により増加したものの、Mint3 KD により減少しなかった。
5. MCT における Mint3 KD により低酸素による MCT のアポトーシスは増悪した。また MCT において Mint3 KD に FIH KD を追加しても低酸素によるアポトーシス増加は抑制されず、さらに MCT では Mint3 KD と FIH KD とも代表的な HIF 下流遺伝子の mRNA の発現には影響しなかったことで、尿細管上皮細胞における Mint3 の機能には FIH/HIF は関与していない可能性が示唆された。
6. NF- $\kappa$ B の抗アポトーシス作用に着目した実験を行い、MCT において Mint3 KD により NF- $\kappa$ B 下流遺伝子である CCL2、CXCL2、IL-6 の mRNA レベルでの発現が低下した。これに一致して MCT における Mint3 KD による抑制性の NF- $\kappa$ B p50 の mRNA、核内の蛋白レベルでの発現の増加が示された。さらに MCT において Mint3 KD により NF- $\kappa$ B 下流の抗アポトーシス分子である TRAF1、BIRC3、GADD45 $\beta$ 、TNFAIP3 の発現が低下した。

以上、本論文は **Mint3** が **uIRI** による腎線維化と尿細管上皮細胞のアポトーシスを軽減することを明らかにした。そこには尿細管上皮細胞における **Mint3** による **NF-κB p50** とその下流にある抗アポトーシス遺伝子の発現の変化が関与している可能性が示唆された。本研究は尿細管上皮細胞における **Mint3** の機能に着目し、腎線維化との関係を明らかにしたことで、いまだに未知なる点が多い腎線維化のメカニズムの解明と慢性腎臓病(**CKD**)の新たな治療法の開拓に貢献すると考えられ、学位授与に値するものと考えられる。