

【目的】近年、死細胞自身が情報の発信源となって多彩な生体応答を誘導することが明らかになり、炎症慢性化における細胞死の意義が注目を集めている。従来、細胞死は、アポトーシスとネクローシスに大別されてきたが、近年、ネクローシスに加え、ネクロプトーシスやフェロトーシスなど、新たな非アポトーシス型のプログラム細胞死の存在やその制御機構が明らかになってきた。最近になって、細胞がアポトーシスに陥る際に、細胞内代謝を変容させて特殊な代謝物を産生し、周囲に働きかけ炎症を収束させることが報告された。即ち、死にゆく細胞は、単に死を受容するのではなく、能動的に活動していることが示唆される。一方、非アポトーシス型細胞死では、細胞死に伴って放出される damage-associated molecular patterns (DAMPs) が周囲の細胞に作用し、様々な病態形成に寄与することが知られているが、DAMPs は単に死細胞から放出されると考えられてきた。我々はこれまでに、結核菌や真菌を認識して感染防御に働く病原体センサーの macrophage-inducible C-type lectin (Mincle) が、内因性リガンドである β -glucosylceramide (β -GlcCer) とコレステロールを認識して、急性腎障害による炎症を遷延化し、慢性腎臓病に至ることを明らかにしてきた。 β -GlcCer は死細胞から放出されると考えられるが、障害腎では β -GlcCer が増加することから、障害を受けた細胞が積極的に β -GlcCer を産生する可能性が示唆される。しかしながら、アポトーシス以外の細胞死様式について細胞内代謝が検討された例はない。そこで、本研究では、障害を受けて死にゆく細胞の細胞内代謝変容に着目し、Mincle 内因性リガンドである β -GlcCer 産生機構を明らかにすることを目的とした。

【方法と結果】1. β -GlcCer 産生機構の解明： β -GlcCer は、セラミドから生合成された後、ラクトシルセラミド (LacCer) に代謝されるが、その量は、合成酵素や糖転移酵素、ATP などで制御されている。そこで、急性腎障害（腎虚血—再灌流障害）における β -GlcCer 蓄積に関与する酵素を明らかにする目的で、虚血-再灌流障害 3 日目の障害腎と対照腎のマイクロアレイデータを用いて、 β -GlcCer 代謝関連酵素の発現変動を検討した。その結果、 β -GlcCer を LacCer に変換する β -1, 4-Galactosyltransferase 5 (B4GalT5) が障害腎で低下することを見出し、本酵素に着目した。虚血-再灌流障害 1 日目～14 日目の障害腎における B4GalT5 の発現を real-time PCR で確認したところ、持続的に発現低下することを見出した。2. β -GlcCer とコレステロールが腎障害に及ぼす影響： β -GlcCer は、通常は細胞内に存在するため、細胞死に伴い細胞外に放出され Mincle を活性化し、炎症遷延化をもたらすと想定される。そこで、実際に、外来性に β -GlcCer を投与すると腎障害が惹起されるかどうかを検討した。即ち、 β -GlcCer 単独、コレステロール単独、 β -GlcCer とコレステロールを含むエマルジョンを野生型マウスと Mincle 欠損マウスの腎皮膜下に投与し、3 日後に腎障害を検討した。その結果、野生型マウスにおいて、 β -GlcCer 単独エマルジョンでは腎障害を起さなかったが、コレステロールと共存することで、Mincle や TNF α などの炎症性サイトカインの発現が著増した。3. 尿細管特異的 B4GalT5 欠損マウスの作出および表現型:1. において、 β -GlcCer 蓄積における B4GalT5 の関与が明らかになったため、尿細管特異的 B4GalT5 欠損マウスを作成した。また、タモキシフェン投与により腎 B4GalT5 発現が著減し、 β -GlcCer が蓄積することを予備的に見出した。

本研究の概念図

