

## 学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	成育科学領域小児病態学教育研究分野 氏名 梅津 英典
<p>(論文題目)</p> <p><b>Interleukin-6 via Toll-like receptor 3 signaling attenuates the expression of proinflammatory chemokines in human podocytes</b></p> <p>(ヒト糸球体上皮細胞における Toll 様受容体 3 シグナルを介したインターロイキン-6 は炎症性ケモカインの発現を抑制する)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>背景：臨床の現場においてウイルス感染は慢性腎臓病（CKD）の発症や既存の CKD の悪化の引き金となることが知られている。Toll 様受容体 3（TLR3）は、ウイルス由来二本鎖 RNA を認識するパターン認識受容体の一つである。TLR3 の活性化による免疫反応は、宿主の抗ウイルス防御の自然免疫反応において重要であり、また、TLR3 の下流のシグナル伝達は CKD の発症に関与しているとされている。インターフェロン(IFN)-<math>\alpha</math>、および IFN-<math>\beta</math> は I 型 IFN であり、自然免疫応答の key molecules とされている。代表的な炎症性サイトカインであるインターロイキン-6（IL-6）は、糸球体構成細胞を含む多くの細胞で炎症の反応を調整し、自然免疫や獲得免疫反応に関与している。Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)および CC モチーフケモカインリガンド 5 (CCL5)は CC モチーフをもつケモカインであり、単球やリンパ球の遊走を制御する働きをもち炎症を惹起する。しかし、糸球体上皮細胞(podocyte)における TLR3 シグナル伝達を介した炎症反応の分子メカニズムはいまだ解明されておらず、podocyte における TLR3 の活性化によるサイトカインやケモカインの発現やその病態生理学的意義についてもほとんど知られていない。</p> <p>方法：不死化ヒト podocyte 細胞株を培養し、ウイルス RNA のアナログである合成二本鎖 RNA のポリイノシン酸-ポリシチジル酸 (poly IC) で処理した。一定時間のインキュベーションの後、培地を回収し細胞から RNA を抽出した。mRNA を精製したのちに逆転写し、IFN-<math>\alpha</math>、IFN-<math>\beta</math>、IL-6、MCP-1、および CCL5 の mRNA 発現を real-time polymerase chain reaction (PCR)で定量した。また、培地中のこれらのタンパク質の濃度を Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)を用いて測定した。また、poly IC が誘導するシグナル伝達経路をさらに解明するために、RNA 干渉法を用いて TLR3、IFN-<math>\beta</math>、および IL-6 のノックダウンを行った。また、ヒトリコンビナント IL-6 (r(h) IL-6) の影響も調べた。</p> <p>結果：poly IC による TLR3 シグナルの活性化により、podocyte における IL-6、MCP-1、CCL5、および IFN-<math>\beta</math> の発現が時間依存的かつ濃度依存的に誘導された。IFN-<math>\alpha</math> タンパク質は poly IC 刺激後においても測定感度以下であった。RNA 干渉実験により、TLR3 および IFN-<math>\beta</math> が poly IC による IL-6、MCP-1、および CCL5 の発現を正に制御していることが明らかになった。興味深いことに podocyte における IL-6 のノックダウンは poly IC による MCP-1 および CCL5 の発現を増加させた。一方、r(h) IL-6 は poly IC によるこれらのケモカインの発現誘導を有意に減少させた。poly IC による IFN-<math>\beta</math> の発現は IL-6 のノックダウンおよび r(h) IL-6 添加のどちらにおいても変化しなかった。</p> <p>結論：podocyte において合成二本鎖 RNA の poly IC は TLR3 を介して IFN-<math>\beta</math>、IL-6、MCP-1、および CCL5 の発現を誘導した。IL-6 は TLR3 下流のシグナル伝達において、MCP-1 と CCL5 の発現を負に調節することが明らかとなった。IL-6 は、一般的に炎症</p>	

を増強させるサイトカインとされているが、Podocyte においては、少なくとも TLR3 の下流では、MCP-1 と CCL5 の過剰な発現を抑制していると考えられた。これらサイトカインやケモカインの発現調節機構の異常やアンバランスが、CKD の発症や増悪に関与している可能性がある。