

28U-pm02

腎近位尿細管上皮細胞における HMGB-1 の細胞外放出に及ぼすカドミウムの影響
○李 辰竜¹, 白鳥 義貴¹, 徳本 真紀¹, 佐藤 雅彦¹ (¹愛知学院大薬)

【目的】カドミウム (Cd) は、慢性中毒症状として腎毒性を主に引き起こすが、Cd 腎毒性の分子レベルでの発現メカニズムについては、ほとんど明確にされていない。我々は、ARNT 転写因子の制御を受ける BIRC3 (アポトーシス抑制因子) の発現低下が、Cd による腎近位尿細管上皮細胞 (HK-2 細胞) でのアポトーシス誘導に関与することを明らかにしている。さらに、BIRC3 はネクロトーシス抑制にも深く関与していることが知られている。ネクロトーシスの際には、RIPK1/3 のリン酸化および HMGB-1 の細胞外放出が引き起こされる。そこで今回、HK-2 細胞における HMGB-1 の細胞外放出に及ぼす Cd および BIRC3 発現抑制の影響を検討した。【方法】HK-2 細胞を Cd で 24 時間処理した後、細胞毒性の指標として MTT アッセイおよび LDH アッセイを行った。さらに、同処理を行った細胞培養液を回収し、細胞外に放出された HMGB-1 を ELISA 法により測定した。また、HK-2 細胞を BIRC3 siRNA で 48 時間処理した後、MTT アッセイおよび LDH アッセイを行うとともに、培地中 HMGB-1 レベルを測定した。なお、Cd で処理した HK-2 細胞を用いて、リン酸化した RIPK1 をウェスタンブロット法により解析した。【結果および考察】Cd 処理による細胞毒性が出現した条件下で、HMGB-1 の細胞外放出が認められた。BIRC3 のノックダウンにより、細胞生存率 (MTT アッセイ) が低下し、HMGB-1 タンパク質の有意な細胞外への放出も認められた。さらに、Cd 処理によって HK-2 細胞内でリン酸化 RIPK1 が検出された。以上の結果より、Cd は腎近位尿細管上皮細胞において、BIRC3 の遺伝子発現を抑制し、ネクロトーシスを介して細胞毒性を引き起こすことが示唆された。