

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08212

研究課題名(和文) 新規サイトカインIL-36に着目した急性腎障害の新たな治療戦略と診断法の開発

研究課題名(英文) Investigation of IL-36 in pathogenesis of acute kidney injury

研究代表者

寺田 典生 (Terada, Yoshio)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授

研究者番号：30251531

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：現在、透析療法に至っている患者数は、全国で34万人を越え、特に急性腎障害(AKI)は、患者の高齢化などにより発症頻度は高まり、全入院患者の約10%で発症し慢性腎臓病(CKD)にも高率に移行し、腎・生命予後を低下させることが報告されてきており、その対策が急務である。本研究は、IL-36によるAKIの病態とCKD移行への関与を検討した。遺伝子改変マウスを用いた実験と腎生検検体やAKI患者尿を用いた検討でIL-36がAKIの病態に関与し、尿中の早期診断マーカーになりうることを見いだした。本研究ではIL-36によるAKIの病態への関与とCKD移行のメカニズムを解明し報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

透析患者数は急増し34万人を超え、その原疾患の一つである急性腎障害(AKI)の患者数と透析導入が著増している。AKIは炎症と線維化により慢性腎臓病(CKD)に移行する事が報告されており、透析患者数の減少のためには、病態の解明が急務である。本申請課題では、AKIの病態とAKIからCKDに移行するメカニズムに、新規IL-1 family のサイトカインであるIL-36がどのように関与するかを解明するとともに、AKI患者の尿中のIL-36の測定が新規のバイオマーカーになり得るかを検討した。AKIの早期診断法の開発と、IL-36受容体の拮抗蛋白や抗体による新規の治療法開発につなげる事を目標にした。

研究成果の概要(英文)：Currently, the number of patients who have reached dialysis therapy exceeds 340,000 Japan nationwide, and the frequency of AKI in particular increases due to the aging of patients, and about 10% of all hospitalized patients. It has been reported that it develops in the disease and shifts to CKD at a high rate and lowers the renal and life prognosis, and countermeasures are urgently needed. This study investigated the pathophysiology of AKI and its involvement in CKD transition by the novel cytokine IL-36. We found that IL-36 is involved in the pathophysiology of AKI and can be an early diagnostic marker in urine through experiments using genetically modified mice and studies using renal biopsy specimens and urine from AKI patients. In this study, the involvement of IL-36 in the pathophysiology of AKI and the mechanism of CKD translocation were elucidated.

研究分野：腎臓内科

キーワード：急性腎障害 慢性腎不全 サイトカイン 慢性腎臓病 線維化

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

(概要)

1. 研究開始当初の背景

研究開始当初の平成 30 年には透析患者数は 32 万人を超え、その原疾患の一つである急性腎障害(AKI)の患者数と透析導入が著増している。AKI の病態は尿細管細胞と浸潤してきた免疫細胞とのクロストークにより炎症がおこること、さらに線維化により慢性腎臓病 (CKD) に移行する事が報告されており、透析患者数の減少のためには、詳細な病態の解明が急務である。本研究課題では、AKI の病態と AKI から CKD に移行するメカニズムに、新規 IL-1 family のサイトカインである IL-36 がどのように関与するかを基礎的・臨床的手法を総合的に駆使して解明するとともに、AKI 患者の尿中の IL-36 の測定が新規のバイオマーカーになり得るかを検討する。AKI の早期診断法の開発と、IL-36 受容体の拮抗蛋白や抗体による新規の治療法開発につなげる事を目標にする。また線維化などによる AKI から CKD に移行における IL-36 の関与も検討し、新規治療戦略の開発を目指した。

2. 研究の目的

本研究の目的は免疫細胞と尿細管細胞のクロストークを IL-36 系と AKI の病態への関与を遺伝子改変マウスと臨床検体の両方を用いて明らかにすることである。それにより AKI の新規の診断・治療法の開発の可能性を目指すことである。本研究の独創的な点は遺伝子改変技術や細胞マーカーなどの技術を使用し、豊富な臨床例での検体を長年にわたり蓄積してきた実績を生かして、基礎・臨床両面から AKI の病態解明と AKI から CKD に移行するメカニズムの解明を目指す点である。さらに IL-36 系は AKI だけでなく、乾癬やクローン病などの Th17 系が関与する病態に広く関わっている可能性があり、臓器をこえた普遍性のある情報となりそのメカニズムの解明は重要である。本研究では下記の 3 テーマについて研究を行う。

3. 研究の方法

【テーマ 1: IL-36R-KO マウスを用いた AKI の病態に及ぼす影響】

近年 AKI の病態は尿細管細胞と浸潤してきた免疫細胞とのクロストークにより、炎症、再生がおこり、さらに線維化により CKD に移行する事が報告されてきているが、その詳細な機序は解明されていない。IL-36 は新規 IL-1 family として報告され、マクロファージや好中球で産生されるとされている。私たちは IL-36R(Receptor)-KO マウスおよび野性型(WT)マウスで両側腎動脈の虚血/再灌流 AKI 後、尿細管細胞と浸潤してきたマクロファージで IL-36 の発現が亢進する事を確認している。さらに野性型マウスを用いた解析で、IL-36R が主として近位尿細管に発現しており、IL-36R-KO で AKI の予後がよく、アポトーシスや組織障害が少ないこと、腎組織中の IL-6, TNF- α の発現が低下していることを認め、これらの点について詳細に解析した。

【テーマ 2: AKI 患者尿と腎生検検体を用いた IL-36 の病態への関与の解明と新規バイオマーカーとしての可能性の検討】

AKI は現在有効な治療法がなく、その理由として早期診断のバイオマーカーが確立していない点がある。そこで本テーマでは AKI 患者尿を用いた IL-36 の測定をおこない、早期バイオマーカーとしての可能性を検討する。造影剤による AKI 患者尿 (n=14) で造影剤使用の 6 時間後で尿中 IL-36 を測定する。また AKI 腎生検検体を用いてヒト腎組織での IL-36 の陽性細胞の同定と検出をおこない、ヒトの AKI の病態での IL-36 系の関与を検証する。

【テーマ 3: AKI から CKD 移行における IL-36 の関与の解明】

私たちの報告(CEN 2017)を含め AKI 患者が長期的に CKD に移行する事が臨床的に注目され、その対策が急務であるがメカニズムは不明な点が多い。本テーマでは AKI から CKD 移行における IL-36 の関与について解明し、新規治療法ならびに診断法を開発する事を目的とした。

4. 研究成果

今回の基盤研究での成果は下記である。

【テーマ 1: IL-36R-KO マウスを用いた AKI の病態に及ぼす影響】

IL-36R-KO マウスで虚血/再灌流 AKI 後の予後が良いこと、尿細管細胞と浸潤してきたマクロファージで IL-36 の発現が亢進する事を見いだした。IL-36 -promoter-luciferase アッセイを用いて活性化への転写因子等の解析を行い、IL-36 の産生が IL-6 などのサイトカインにより亢進する事を見いだした。

【テーマ 2: AKI 患者尿と腎生検検体を用いた IL-36 の病態への解明と新規バイオマーカーとしての可能性の検討】

私たちは、AKI 患者尿で造影剤使用の 6 時間後で尿中 IL-36 が上昇し、早期に AKI を診断できる早期バイオマーカーとなり得る可能性を示した。さらに、また AKI 腎生検組織で浸潤細胞や尿細管での IL-36 の発現が亢進する事を見いだした

【テーマ 3: AKI から CKD 移行における IL-36 の関与の解明】

AKI から CKD 移行における IL-36 の関与について解明するために、二つの AKI から CKD に移行

するマウスモデルを作成した；薬剤性腎障害モデル（アリストロキン酸投与）と虚血後障害モデル（左腎虚血/再灌流後、右腎摘し 30 日後解析）。両方のモデルに共通して IL-36R-KO マウスで予後が良いデータを得た。今後 IL-36R-KO マウスと野性型マウスで線維化に関する Collagen-typeIV, CTGF(connective tissue growth factor)の発現解析と染色を行い、IL-36R-KO マウスで繊維化が抑制されていることを見いだした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Horino T, Terada Y	4. 巻 24
2. 論文標題 Whole immunofluorescence staining of podocytes in fabry disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nephrology	6. 最初と最後の頁 135-135
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/nep.13259	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Horino T, Ichii O, Terada Y	4. 巻 58
2. 論文標題 A Rare Presentation of Hypermagnesemia Associated with Acute Kidney Injury due to Hypercalcemia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 1123-1126
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.1927-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Isaka Y, Terada Y	4. 巻 83
2. 論文標題 Guideline on the Use of Iodinated Contrast Media in Patients With Kidney Disease 2018	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circ J.	6. 最初と最後の頁 2572-2607
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1253/circj.CJ-19-0783	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nishikawa H, Taniguchi Y, Matsumoto T, Arima N, Masaki M, Shimamura Y, Inoue K, Horino T, Fujimoto S, Ohko K, Komatsu T, Udaka K, Sano S, Terada Y.	4. 巻 93
2. 論文標題 Knockout of the interleukin-36 receptor protects against renal ischemia-reperfusion injury by reduction of proinflammatory cytokines.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Kidney Int.	6. 最初と最後の頁 599-614
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.kint.2017.09.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagata Keitaro, Horino Taro, Hatakeyama Yutaka, Matsumoto Tatsuki, Terada Yoshio, Okuhara Yoshiyasu	4. 巻 26
2. 論文標題 Effects of transient acute kidney injury, persistent acute kidney injury and acute kidney disease on the long term renal prognosis after an initial acute kidney injury event	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nephrology	6. 最初と最後の頁 312 ~ 318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nep.13831	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 寺田典生, 間崎 護, 西川浩文, 有馬直樹, 松本竜季, 大出佳寿, 島村芳子, 井上紘輔, 谷口義典, 堀野太郎, 藤本新平
2. 発表標題 IL-36受容体欠損マウスでは急性腎症害の予後が改善し、尿中IL-36は新規バイオマーカーとなり得る
3. 学会等名 日本高血圧学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuji Kadowaki, Masami Ogasawara, Satoshi Inotani, Hirofumi Nishikawa, Tatsuki Matsumoto, Yoshiko Shimamura, Yoshinori Taniguchi, Taro Horino, Shimpei Fujimoto, Yoshio Terada
2. 発表標題 Knockout of interleukin-36 receptor ameliorates acute kidney injury-to-chronic kidney disease transition via prevention of fibrosis and inflammasome.
3. 学会等名 アメリカ腎臓学会(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeshi Kashio, Kaori Tanaka, Masami Ogasawara, Satoshi Inotani, Hirofumi Nishikawa, Tatsuki Matsumoto, Yoshiko Shimamura, Yoshinori Taniguchi, Taro Horino, Shimpei Fujimoto, Tetsuji Naka, Yoshio Terada
2. 発表標題 Knockout of leucine rich -2 glycoprotein protects against renal ischemia-reperfusion injury through reduction of fibrosis and apoptosis.
3. 学会等名 アメリカ腎臓学会(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masami Ogasawara, Hirofumi Nishikawa, Ryota Kobayashi, Mamoru Masaki, Tatsuki Matsumoto, Yoshiko Shimamura, Kosuke Inoue, Yoshinori Taniguchi, Taro Horino, Shimpei Fujimoto, Yoshio Terada.
2. 発表標題 Knockout of interleukin-36 receptor prevents fibrosis in mice models of acute kidney injury-to-chronic kidney disease progression.
3. 学会等名 The 61th Annual Meeting of American Society of Nephrology, (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村慧峻, 田中 香, 西川浩文, 猪谷哲司, 松本竜季, 島村芳子, 谷口義典, 堀野太郎, 藤本新平, 寺田典生
2. 発表標題 Leucine rich -2 glycoprotein(LRG)欠損マウスでは急性腎障害から慢性腎臓病の移行と繊維化が抑制される
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	谷口 義典 (Taniguchi Yoshinori) (70584431)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・助教 (16401)	
研究分担者	佐野 栄紀 (Sano Shigetoshi) (80273621)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授 (16401)	
研究分担者	堀野 太郎 (Horio Taro) (90448382)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・講師 (16401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------