

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：35302

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23710

研究課題名(和文)セロトニンの持つ腎線維化調節機序の可能性

研究課題名(英文)Investigation of kidney fibrosis mechanism via serotonin

研究代表者

三河 翔馬(MIKAWA, SHOMA)

岡山理科大学・獣医学部・助教

研究者番号：20845664

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：片側尿管結紮(UUO)モデル作成後1週間後において、血小板の5-HT放出能異常を持ち、血中5-HT濃度が減少するFawn-Hoodedラット(FHラット)では、野生型ラットであるWistarラットと比較して、炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )のmRNA発現が有意に減少していたが、線維化の指標であるコラーゲンなどに差は認められなかった。このことから、血小板由来の5-HTは急速に進行する腎線維化には影響しなかったが、炎症の調節には関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、生理活性物質であるセロトニンが腎臓における炎症に関与していることが示唆された。炎症は腎臓の線維化にも関与しており、慢性的に線維化が進行する慢性腎臓病の病態に関与する可能性がある。この成果はいまだ治療法のない腎臓の線維化および慢性腎臓病に対する治療薬の開発の基盤となる可能性がある。今後は徐々に進行する腎線維化モデルを用いてさらに研究を継続していく。

研究成果の概要(英文)：In the unilateral ureteral obstruction (UUO) model, the mRNA expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) was higher in Fawn-Hooded rats (FH rats) compared to wild-type rats (Wistar rats). FH rats show abnormal 5-HT release of platelets and decreased blood 5-HT levels. However, there was no difference in the amount of collagen, which is an index of fibrosis. This suggests that platelet-derived 5-HT did not affect rapidly progressing renal fibrosis, but may be involved in the regulation of inflammation.

研究分野：獣医学

キーワード：セロトニン 血小板 腎線維化 セロトニン受容体 ドラッグリポジショニング 炎症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、慢性透析患者の数が増加し、高額な医療費が公的医療保険制度の財政圧迫の要因となっており、慢性腎臓病 (CKD) に対する新たな治療法の確立が求められている。現在は CKD の早期発見に重点が置かれているが、腎機能を積極的に改善させるような治療法はまだ開発されていない。近年、生理活性物質であるセロトニン (5-HT) が全身性硬化症における皮膚の線維化に関与しているという報告が存在し、これには血小板由来の 5-HT が関与していることが示唆されている。また腎線維化にも 5-HT が関与していることが示唆されているが、その 5-HT の起源などは明らかにできておらず、腎線維化と 5-HT の関連は詳しく明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、「5-HT を豊富に含む血小板から分泌された 5-HT が炎症細胞や腎間質細胞に働き、炎症や線維化を調節しているのではないか」という仮説を検証し、CKD の新たな治療法開発の可能性へとつなげる研究として進めて行く。CKD が進行する際に出現する腎臓の線維化に着目し、血小板由来の 5-HT が線維化に関与しているかどうかを検証する。また、5-HT による炎症調節が腎線維化に関連しているかどうかを検証する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 血小板由来 5-HT の腎線維化への関与の検討

血小板由来の 5-HT の影響を評価するため、血小板の 5-HT 放出能異常を持ち、血中 5-HT 濃度が減少することが知られている Fawn-Hooded ラット (FH ラット) を用いて評価を行った。腎臓の炎症および線維化が生じることが知られている *in vivo* モデルとして片側尿管結紮 (UUO) モデルラットを、FH ラットおよび野生型ラット (Wistar ラット) で作製した。UUO モデルはラットの左尿管を結紮することで作成し、左腎が水腎となり線維化を引き起こす。右腎は対症コントロールとして無処置のままとした。UUO モデル作製 1 週間後、腎臓を摘出し、腎臓の線維化の指標として、コラーゲン (COL1A1)、アクチン (ACTA2) およびベータ型変異増殖因子 (TGFB1) の mRNA 発現を FH ラットおよび Wistar ラットで比較した。またヒドロキシプロリンアッセイによって、水腎でのコラーゲンの定量を行い、FH ラットおよび Wistar ラットで比較した。

#### (2) 腎線維化における 5-HT の炎症調節の評価

腎線維化の際に生じる炎症に関して評価するため、UUO モデル作製 1 週間後の腎臓を用いて、腫瘍壊死因子- (TNF-) の mRNA 発現を、FH ラットおよび Wistar ラットで比較した。

### 4. 研究成果

#### (1) 血小板由来 5-HT の腎線維化への関与の検討

UUO モデルの作製によって、FH ラットおよび Wistar ラットの両系統で左腎が水腎となった。右腎及び左腎より mRNA を抽出し、COL1A1、ACTA2 および TGFB1 の発現量を評価したところ、FH ラットおよび Wistar ラットの両系統において、右腎よりも左腎で COL1A1、ACTA2 および TGFB1 の発現量は増加していた。一方で、左腎における TGFB1 の発現量は FH ラットおよび Wistar ラットで差が見られなかった。また左腎における COL1A1 および ACTA2 の発現量も、FH ラットのほうが Wistar ラットに比較して少ない傾向があったが、統計学的に有意ではなかった。ヒドロキシプロリンアッセイにコラーゲンの定量では、FH ラットの左腎および Wistar ラットの左腎に差は認められなかった。これらの結果は血小板由来の 5-HT の有無は、UUO モデルによる腎線維化には直接影響を与えないことが示唆された。

#### (2) 腎線維化における 5-HT の炎症調節の評価

UUO モデルを作製した FH ラットの左腎および Wistar ラットの左腎において、炎症性サイトカインである TNF- の mRNA 発現を評価したところ、Wistar ラットの左腎よりも、FH ラットの左腎で、TNF- の mRNA 発現量が有意に低下していた。これは FH ラットの左腎では炎症が軽度であった可能性が示唆された。

これらの結果より、血小板由来の 5-HT は TGFB1 を介した線維化には直接影響を与えていないことが明らかになったが、炎症性サイトカインの産生には関与している可能性が示唆された。炎症は線維化を促進する因子の一つであり、このことが最終的なコラーゲンの産生量や mRNA の発現量では有意差がなかったが、COL1A1 および ACTA2 の mRNA 発現量が FH ラットのほうが比較して少ない傾向があったことを裏付けるかもしれない。UUO モデルは進行が速い急性の腎線維化モデルであるため、線維化の転機がかなり早い。一方で CKD のように慢性経過をた

どり腎線維化を起こす場合は、炎症の及ぼす影響も無視できないものになると考えられ、これは5-HTが炎症を介した緩やかな線維化には関与する可能性を示唆している。今後は緩徐な線維化モデルを用いて、5-HTと腎線維化の関連を解明していく予定である。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Kimura Hitomi, Yoneya Yutaka, Mikawa Shoma, Kaji Noriyuki, Ito Hiroki, Tsuchida Yasuaki, Komatsu Hirotsugu, Murata Takahisa, Ozaki Hiroshi, Uchida Ryota, Nishida Keigo, Hori Masatoshi	4. 巻 123
2. 論文標題 A new zinc chelator, IPZ-010 ameliorates postoperative ileus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomedicine & Pharmacotherapy	6. 最初と最後の頁 109773 ~ 109773
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biopha.2019.109773	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 Mikawa S., Nagakawa M., Ogi H., Akabane R., Koyama Y., Sakatani A., Ogawa M., Miyakawa H., Shigemoto J., Tokuriki T., Toda N., Miyagawa Y., Takemura N.	4. 巻 30
2. 論文標題 Use of vertebral left atrial size for staging of dogs with myxomatous valve disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Cardiology	6. 最初と最後の頁 92 ~ 99
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jvc.2020.06.001	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 Aikiyo Satoshi, Kishi Kazuhisa, Kaji Noriyuki, Mikawa Shoma, Kondo Makoto, Shimada Shoichi, Hori Masatoshi	4. 巻 1
2. 論文標題 Contribution of Serotonin 3A Receptor to Motor Function and Its Expression in the Gastrointestinal Tract	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestion	6. 最初と最後の頁 1 ~ 11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000509209	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三河翔馬, 重本仁, 河津充伸, 小林巧, 斎藤翔, 藤原絵梨, 吉田直喜, 鳥巢至道
2. 発表標題 犬の先天性肝外門脈体循環シャントに対し、腹腔鏡手術を行った25例と開腹手術を行った9例の比較検討
3. 学会等名 第98回日本獣医麻酔外科学会
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 河津充伸, 重本仁, 斎藤翔, 藤原絵梨, 三河翔馬, 神志那弘明
2. 発表標題 小動物脊椎内視鏡(Easy GO )を用いて椎間板ヘルニア手術を行った2症例
3. 学会等名 第98回日本獣医麻酔外科学会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 三河翔馬, 愛清哲, 梶典幸, 尾崎博, 近藤誠, 島田昌一, 堀正敏
2. 発表標題 5-HT3ARレポーターマウスを用いた腸管における5-HT3AR発現分布の解析
3. 学会等名 第61回日本平滑筋学会
4. 発表年 2019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

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