

令和 6 年 5 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2023

課題番号：21K20894

研究課題名（和文）慢性腎臓病における迷走神経刺激の保護効果の検討

研究課題名（英文）Protective effect of vagus nerve stimulation on chronic kidney disease

研究代表者

田中 真司（Tanaka, Shinji）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80913699

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000 円

研究成果の概要（和文）：青色光を感知できる物質であるChR2が迷走神経に存在しているマウスの迷走神経に、アップコンバージョンナノ粒子（近赤外光を受け取ると青色光を出す性質を持っている）を局所投与し、その後近赤外光レーザーを迷走神経に直接照射した。心拍数や呼吸数などの変化を観察したところ、この操作で迷走神経が興奮している証拠が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の成果は、体の外から近赤外光を当てることによって、迷走神経を刺激することができることを示唆している。世界人口全体の約1割が罹患していると考えられている慢性腎臓病は、進行すると末期腎不全に至り透析や腎移植を必要とするが、その進展予防を目指した現在の治療戦略は限定的である。今回の成果は、迷走神経刺激が慢性腎臓病に有効かどうかを検証するための、第一歩である。

研究成果の概要（英文）：ChR2 is sensitive to blue light. We used mice, in which ChR2 is expressed in the vagus nerve. When we applied blue light to the vagus nerve of these mice after the local administration of upconversion nanoparticles that emit blue light when illuminated with near infrared light, the vagus nerve expressing ChR2 was excited.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：オプトジェネティクス アップコンバージョン 迷走神経刺激 慢性腎臓病

※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。

1. 研究開始当初の背景

世界人口全体の約1割が罹患していると考えられている慢性腎臓病（CKD）は、進行すると末期腎不全に至り透析や腎移植を必要とする以外にも、心血管死・イベントの強い危険因子であるため、公衆衛生上の大きな問題であるが、その進展予防を目指した現在の治療戦略は限定的で、血圧・血糖管理など非特異的なものがほとんどである。

近年、神経系と免疫系の相互作用が、新たな炎症性疾患の治療戦略として注目されている。その中でも、2000年に初めて報告された迷走神経刺激（VNS; Nature 405:458-62, 2000）は、コリン作動性抗炎症経路（図1）を活性化し、これまで様々な炎症性疾患モデルで保護効果が示されてきた。VNSは炎症性腸疾患や関節リウマチを対象とした小規模臨床試験でも効果が示され、臨床応用が期待されているが、炎症が進展に重要な役割を果たすCKDにおける有効性は不明である。申請者の留学先（前所属先）であるバージニア大学Okusa研究室は、VNSの急性腎障害への応用においてパイオニア的存在であり（J Clin Invest 126:1939-52, 2016）、申請者も留学中にオプトジェネティクスを用いて迷走神経遠心性・求心性線維の刺激が独立した神経回路を活性化し急性腎障害に対して保護的に働くことを見出した（Tanaka, et al. 2021 PNAS）。CKDでのVNSの有効性を検証するには、CKDモデル動物においてVNSを反復して行う必要があるが、VNS手術を繰り返すことは侵襲性の点から現実的ではなく、反復手術を避けるために電極など刺激装置を体内に埋め込むこともマウスなどの小動物においては困難であるため、検証が不可能であった。

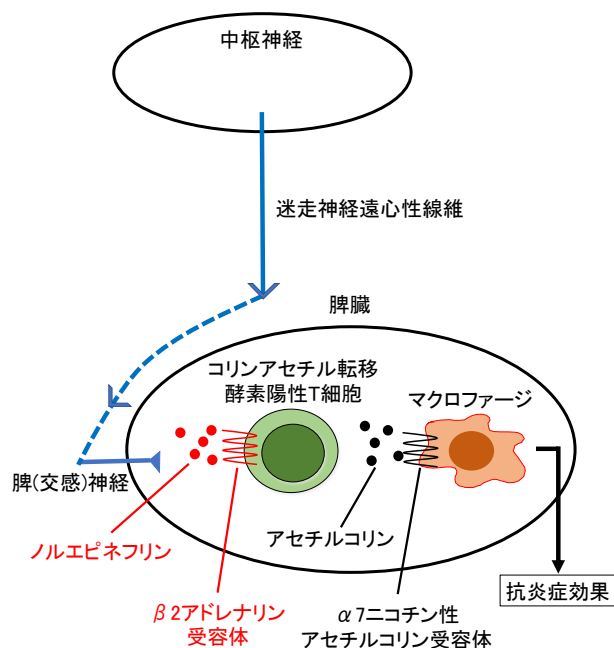


図1 コリン作動性抗炎症経路

2. 研究の目的

本研究の目的は、非侵襲的・反復的にVNSをマウスに施行する方法を確立すること・その方法を用いてCKDにおけるVNSの有効性を検証することである。オプトジェネティクスは、ChR2（波長470nm付近の青色光を受容すると非選択的陽イオンチャネルが開閉し、ChR2発現細胞は興奮する）などの光感受性タンパクを特定の細胞に発現させ、それに光を照射することにより細胞の機能（主に神経細胞の興奮・抑制）を操作する手法である。その手法を用いて体内にある神経を非侵襲的に体外から操作するには、近赤外光など透過度の高い長波長光を用いる必要があるが、そのような長波長光に反応する光感受性タンパクは知られていない。一方、希土類より合成されたランタニドナノ粒子は、近赤外光を励起光とし、アップコンバージョンにより青色光などの可視光を発光することが報告されており（Science 359:679-84, 2018）、例えばNaYF₄:Yb/Tmナノ粒子は波長980nm付近の近赤外光を受容すると波長470nm付近の青色光を放出する。従来の方法では困難であった、非侵襲的・反復的な末梢神経の刺激を、オプトジェネティクスとアップコンバージョンナノ粒子を組み合わせることにより達成する点が本研究の最大の特徴であり、独創的な点である（図2）。

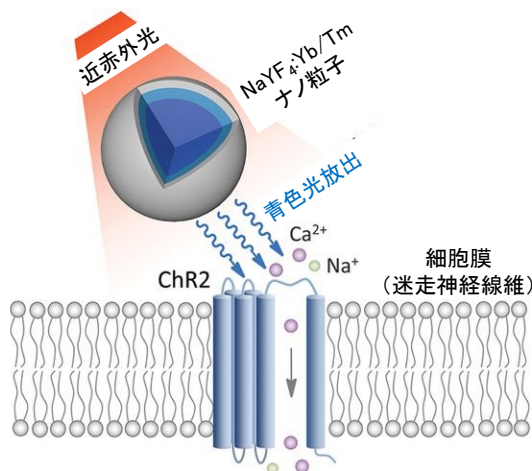


図2 本研究の戦略:ChR2を発現する迷走神経線維にNaYF₄:Yb/Tmナノ粒子を局所投与し近赤外光を照射すると、ナノ粒子から放出される青色光で神経が興奮する

3. 研究の方法

Chat-ChR2 マウス・Vglut2-ChR2 マウス（それぞれ迷走神経遠心性・求心性線維に ChR2 が発現）を用いる。まず非侵襲的 VNS の条件の最適化を行う。条件最適化後、CKD マウスに VNS を連日施行する。CKD 誘導のため、片側腎虚血再灌流または葉酸投与を行い、Day 3 に手術で左頸部迷走神経に NaYF₄:Yb/Tm ナノ粒子を局所投与し閉創する。Day 4-13 に連日、麻酔下で左頸部迷走神経に体外から近赤外光レーザーを照射し、青色光を迷走神経局所で発生させ、ChR2 発現線維を刺激する。Day 14 に腎臓・血液を採取し、迷走神経遠心性・求心性線維刺激の腎線維化（CKD 進展）への効果を調べる。

4. 研究成果

まず NaYF₄:Yb/Tm ナノ粒子のアップコンバージョンを確認するため、同粒子に波長 980 nm の近赤外光を照射したところ、青色光が観察された（図 3）。

次に、Chat-ChR2 マウス・Vglut2-ChR2 マウス（それぞれ迷走神経遠心性・求心性線維に ChR2 が発現）の左頸部迷走神経を露出し、NaYF₄:Yb/Tm ナノ粒子を局所投与した後、近赤外光を直接露出した迷走神経に照射すると、Chat-ChR2 マウスでは心拍数低下のみが観察され（図 4）、Vglut2-ChR2 マウスでは呼吸数・心拍数ともに低下した（図 5；迷走神経求心性線維を刺激すると呼吸数が低下することが知られている（Hering-Breuer 反射））。一方 ChR2 を発現しないコントロールマウスやアップコンバージョンを起こさないコントロールナノ粒子を用いると、近赤外光照射は心拍数や呼吸数を変化させなかった。

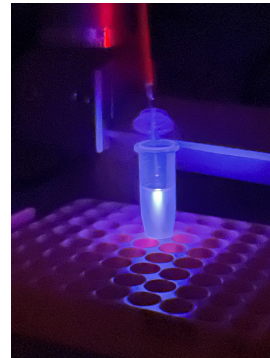


図3 アップコンバージョンによる青色光放出
NaYF₄:Yb/Tmナノ粒子を含む液体に近赤外光（波長: 980 nm）を照射すると、青色光が放出された。

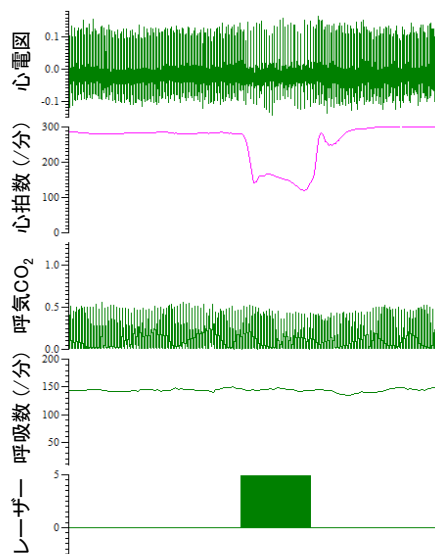


図4 Chat-ChR2 マウスにおける心拍数低下
Chat-ChR2 マウスの頸部迷走神経に NaYF₄:Yb/Tm ナノ粒子を局所投与し近赤外光（波長: 980 nm）を照射すると、心拍数低下のみが観察された。

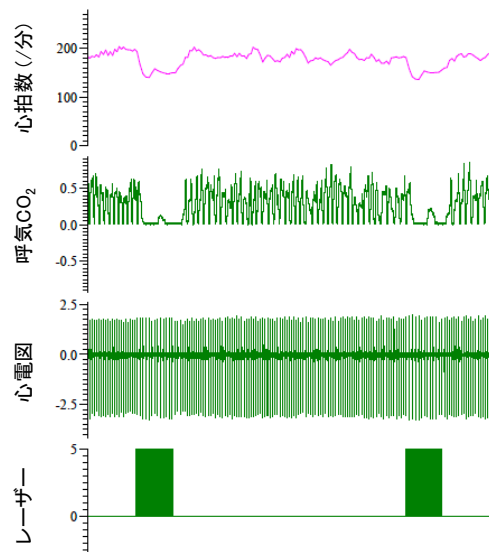


図5 Vglut2-ChR2 マウスにおける呼吸数・心拍数低下
Vglut2-ChR2 マウスの頸部迷走神経に NaYF₄:Yb/Tm ナノ粒子を局所投与し近赤外光（波長: 980 nm）を照射すると、呼吸数・心拍数ともに低下した。

上記実験では近赤外光のファイバーを露出した迷走神経の直上に置いたが、本実験では神経とファイバーの間に皮膚やその他の組織が存在するため、次に麻酔下のマウスにおいて、皮膚の上から近赤外光を照射し、同様の生理学的パラメータの変化が観察できるか検証した。その結果、同様に生理学的パラメータの変化が観察できた個体も存在したが、結果は安定しなかった。ファイバー径が細いため、迷走神経に上手く照射されていない可能性を考え、超音波で頸動脈の位置を確認してから照射する方法を試みたが、結果は大きく変わらなかった。今後、再現性を持って至適強度の刺激を行うためには、照射範囲が広く照度も高い機器を導入する必要があると考えられた。

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 2件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Goggins Eibhlin, Mitani Shuhei, Tanaka Shinji	4. 巻 136
2. 論文標題 Clinical perspectives on vagus nerve stimulation: present and future	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical Science	6. 最初と最後の頁 695～709
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1042/CS20210507	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 該当する

1. 著者名 Tanaka Shinji, Portilla Didier, Okusa Mark D.	4. 巻 19
2. 論文標題 Role of perivascular cells in kidney homeostasis, inflammation, repair and fibrosis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Reviews Nephrology	6. 最初と最後の頁 721～732
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41581-023-00752-7	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 該当する

1. 著者名 Tanaka Shinji	4. 巻 -
2. 論文標題 Targeting inflammation in perivascular cells and neuroimmune interactions for treating kidney disease	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Nephrology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10157-024-02494-7	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2件（うち招待講演 2件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 田中 真司	
2. 発表標題 Targeting inflammation for treating kidney disease	
3. 学会等名 第66回日本腎臓学会学術総会（招待講演）	
4. 発表年 2023年	

1. 発表者名 Shinji Tanaka
2. 発表標題 Controlling Kidney Inflammation Through the Nervous System
3. 学会等名 The World Congress of Nephrology 2024（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2024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
---------	---------