

令和 6 年 5 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16232

研究課題名（和文）消化管ホルモンによる急性腎障害軽減効果のメカニズムの検討

研究課題名（英文）Research on the mechanism by which gastrointestinal hormones prevent acute kidney injury

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） 3,600,000 円

研究成果の概要（和文）：野生型マウスに消化管ホルモンXを投与しておく、その後の急性腎障害が軽減することを見出した。あらかじめマウスの脾臓を取り除いておくと、この腎臓保護効果が完全に失われたことから、Xによる腎保護効果において脾臓が必要であることがわかった。一方、消化管ホルモンXを投与しても、迷走神経求心性ニューロンは興奮しなかったことから、腎保護効果には迷走神経は関与していない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

急性腎障害は急激な腎機能低下を特徴とし、入院患者の約1割、ICU患者の約半数が合併するとされる。急性腎障害があらゆる症例の予後を悪化させ、さらに急性腎障害を発症するとその後慢性腎臓病さらには末期腎不全に進展し得ることも大きな問題である。しかしこの急性腎障害に対する特異的な治療はいまだ存在せず、新たな治療戦略が求められている。このような背景から、本研究によって消化管ホルモンによる腎保護メカニズムが明らかになれば、新規の急性腎障害予防・治療戦略の開発につながり、社会的意義は大きいものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Administration of GI hormone X significantly ameliorated acute kidney injury in wild-type mice. The protective effect was completely abolished in splenectomized mice, suggesting that the spleen is necessary for the renoprotective effect of X. Administration of GI hormone X did not excite afferent vagus nerve. This finding suggests that the vagus nerve may not contribute to the kidney protection by X administration.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：消化管ホルモン 急性腎障害 神経免疫関連

1. 研究開始当初の背景

急性腎障害は急激な腎機能低下を特徴とする症候群であり、病態生理において炎症が重要な役割を果たすことが知られている。入院患者の約10%、ICU患者の約半数が合併するとされる急性腎障害があらゆる症例の予後を悪化させることは数多くの疫学研究で報告されており、さらに急性腎障害を発症するとその後慢性腎臓病さらには末期腎不全に進展し得ることも大きな問題である。しかしこの喫緊の臨床課題である急性腎障害に対する特異的な治療はいまだ存在せず、新たな治療戦略が求められている。

2017年にNature ImmunologyとNature NeuroscienceがNeuroimmune communicationに関する合同の特集を企画するなど、近年神経系と免疫系の相互作用は、新たな炎症性疾患の治療戦略として様々な臓器において注目されている分野である。その中でも、2000年に報告された迷走神経刺激（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。迷走神経刺激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、今後様々な疾患において臨床応用が期待されている。申請者の留学先（前所属先）は迷走神経刺激の腎領域でのパイオニアであり（JCI 126: 1939-52, 2016）、申請者は留学中に、迷走神経刺激は古典的なコリン作動性抗炎症経路とは独立して、迷走神経求心性線維→延髄

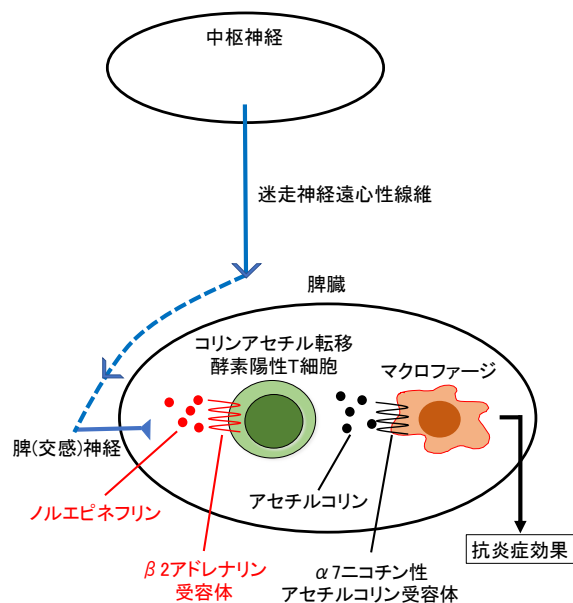


図1 コリン作動性抗炎症経路

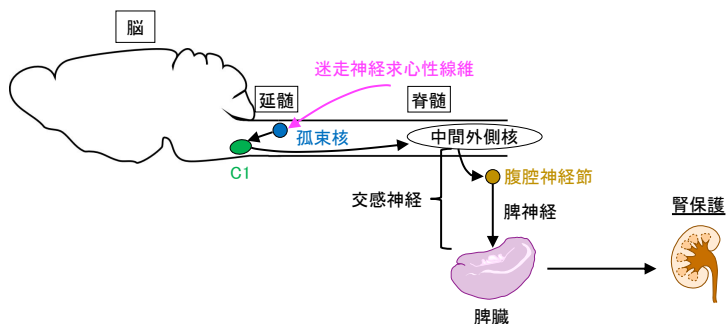


図2 迷走神経求心性線維刺激による腎保護に関わる神経回路

のC1 neurons→交感神経→脾神経→脾臓（図2）という経路も活性化し、脾細胞のフェノタイプを抗炎症性に変えることにより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）。

一方、迷走神経求心性ニューロンの中には消化管ホルモンに対する受容体を発現しているpopulationが存在する。これらの消化管ホルモンの中には、急性腎障害に対する保護効果の報告がすでになされているものも存在するが、そのメカニズムは明らかではなく、ヒトの急性腎障害を対象とした臨床試験には至っていない。最近のsingle cell RNA-seqの結果では、これらのホルモンに対応する受容体は腎臓にはほとんど発現していないことがわかってきており、これら消化管ホルモンの腎保護効果は腎臓構成細胞への直接的な影響では説明できない可能性が高い。

2. 研究の目的

以上の背景から申請者は、「これらの消化管ホルモン（X, Y, Zとする）は迷走神経求心性ニューロンに結合し、消化管-神経-脾臓-腎臓 連関を介し、急性腎障害において保護効果をもたらす」という仮説を立てた。本研究の目的はこの仮説が正しいかどうかを検証することである。

本研究は、様々な臓器で注目されている神経系-免疫系のクロストークを介した多臓器連関がこれらの消化管ホルモンの腎保護メカニズムに関与していることを明らかにしようとしている点、さらにこの仮説が正しければ、抗炎症経路自体を直接的な迷走神経電気刺激ではなく薬剤で活性化できることになる点、が新規であり独創的である。臨床応用という点では、迷走神経電気刺激においては、刺激装置を体内に埋め込まなければならないことが臨床試験実施にとって大きな障害であった（非侵襲的な刺激装置も報告されているが、基礎実験データ・臨床データともに限られている）。これら消化管ホルモンの受容体のアゴニストはすでに存在しているため、消

化管ホルモンによる抗炎症経路活性化を明らかにしようとする本研究は、抗炎症経路の臨床応用において非常に重要であると考えられる。さらに本研究で明らかにしようとしている神経-脾臓を軸とした抗炎症経路は様々な組織・臓器で保護的に働くことが示されており、本研究で得られる知見は他分野にも大きな影響を与えると考えられる。

3. 研究の方法

以下の実験では、野生型マウス (C57B/6J) を用いた。急性腎障害モデルとしては両側腎虚血再灌流を用い、腎障害の評価としては血漿クレアチニン測定を行った。両側腎虚血再灌流手術は、マウスに全身麻酔をかけた後、両側の腎動静脈を露出し、金属クランプで 26 分間阻血した後クランプを外す、というもので、虚血性急性腎障害のモデルとして最もよく用いられるモデルの一つである。

次に、上述の腎保護効果において、迷走神経求心性ニューロン以降の経路が迷走神経求心性ニューロンの直接刺激 (図 2) と同じ経路かを検討するため、脾摘マウスにおいて腎保護効果が消失するかを調べた。

最後に、投与された消化管ホルモン X, Y, Z が、迷走神経求心性ニューロンに発現するそれぞれの受容体に結合し、迷走神経求心性ニューロンを興奮させるかを検討するため、上述の腎保護効果が得られた用量を野生型マウスに投与し、nodose/jugular ganglion (迷走神経求心性ニューロンの細胞体) における c-Fos (神経細胞の活性化マーカー) の発現を免疫組織化学染色で調べ、vehicle 投与時と比較した。

4. 研究成果

野生型マウスに消化管ホルモン X (0.3 mg/kg s.c.) を投与後 (手術 24, 12 時間前の 2 回)、両側腎虚血再灌流手術を行い、24 時間後に血漿クレアチニンを測定した結果を図 3 に示す。消化管ホルモン X 投与群で有意に血漿クレアチニンが低下しており、消化管ホルモン X による腎保護効果が確認できた。さらに X による腎保護効果が上述の腎保護経路を介したものを検討するため、脾摘マウスを用いて同様の実験をおこなった。すなわち、野生型マウスの脾臓を摘出し、その 7 日後に先述と同様の方法で X を投与し、両側腎虚血再灌流 24 時間後に血漿クレアチニンを測定した (図 4)。Sham 群では X による腎保護効果が再現性をもって確認されたが、脾臓を摘出されたマウスでは X による腎保護効果が完全に消失した。この結果は、X による腎保護効果において脾臓が必要であることを示しており、上述の腎保護神経回路を介したものであることをさらに支持するものである。

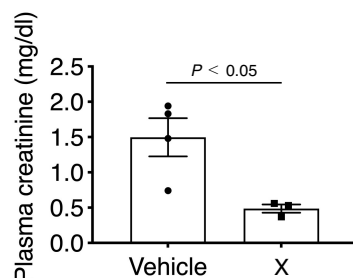


図3 消化管ホルモンX投与の腎保護効果
野生型マウスに消化管ホルモンX (0.3 mg/kg s.c.) を投与後(手術24, 12時間前の2回)、両側腎虚血再灌流手術を行い、24時間後に血漿クレアチニンを測定した。

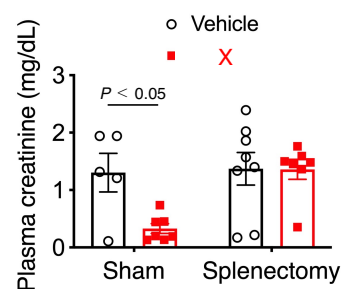


図4 脾摘は消化管ホルモンXの腎保護効果を消失させる
野生型マウスの脾臓を摘出し、7日後に図3と同様の方法で消化管ホルモンXを投与し、両側腎虚血再灌流 24時間後に血漿クレアチニンを測定した。

次に、投与された消化管ホルモン X が迷走神経求心性ニューロンを興奮させているかを検討するため、上述の腎保護効果が得られた用量 (0.3 mg/kg s.c.) を野生型マウスに投与し、nodose/jugular ganglion における c-Fos の発現を免疫組織化学染色で調べたが、vehicle 投与時と比較して c-Fos 陽性細胞数は変わらなかった。一方、マウス腎臓から抽出した mRNA を調べたところ、これまでの single cell RNA-seq の結果と異なり、低いレベルながらマウス腎臓は消化管ホルモン X に対する受容体を発現していることが判明した。以上の結果は、X による腎保護効果は迷走神経を介するものではなく、直接の腎臓構成細胞への作用も重要である可能性を示唆するものである。今後、受容体を発現する腎臓構成細胞を同定するとともに、脾臓がどのように腎保護効果に寄与しているのかも含め、詳細なメカニズムを検討する予定である。

また、同様の腎保護効果の既報がある消化管ホルモン Y, Z については、様々な用量・投与プロトコルを試したものの、腎保護効果が確認できなかった。現在検証は pending としているが、今後は、ホルモンそのものの投与ではなく、ホルモン受容体のアゴニストの投与実験をおこなっていく予定である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 1件）

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
---------	---------