

令和 2 年 4 月 25 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：2018～2019

課題番号：18H06192・19K21297

研究課題名（和文）コリン性抗炎症経路における免疫細胞活性化機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of immune cell activation mechanism in the cholinergic anti-inflammatory pathway

研究代表者

井上 剛（Inoue, Tsuyoshi）

東京大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：30821665

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：迷走神経刺激による腎臓保護効果に関して、そのメカニズムに関する研究を行なった。迷走神経を刺激すると神経終末からアセチルコリンが放出されるが、アセチルコリンがマクロファージに存在する特定の受容体を介して、Hes1という遺伝子を発現させ、腎障害を改善させることを明らかにした。また臨床現場で良く遭遇するシスプラチン腎症モデルにおいて、腎障害が生じた後でも迷走神経刺激を行うことで、腎臓の障害が軽減されることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの方が腎臓病を患う一方、腎臓病の根本的な治療法はいまだに存在せず、新たな治療法の開発は喫緊の課題である。本研究によって、神経系-免疫系を介した新規の腎臓保護作用メカニズムの一端を解明することができた。今後さらに研究を進めることで、腎臓病の新規の治療法開発につなげていきたい。

研究成果の概要（英文）：We investigated the mechanism regarding the renal protection effect of vagus nerve stimulation. Stimulating the vagus nerve releases acetylcholine from the nerve endings, and we showed that acetylcholine induces Hes1 gene expression through a specific receptor present in macrophages and improves renal injury. We also found that in a model of cisplatin-induced kidney injury that is often encountered in clinical practice, vagus nerve stimulation can reduce renal damage even after kidney injury has occurred.

研究分野：腎臓

キーワード：腎臓 迷走神経刺激 マクロファージ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経系と免疫系は関連のない全く異なる系として長く考えられてきたが、近年これらの 2 つの系が恒常性維持および病態におけるストレス応答において、協調的に働くとするエビデンスが数多く報告されている。中でも特に注目されているのが、第 X 脳神経である迷走神経（副交感神経）を介した免疫調節機構であり（Nature 421:384-388, 2003, Science 334:8-101, 2011）、その経路はコリン性抗炎症経路と呼ばれている。実際、電気刺激による迷走神経刺激は、この経路を活性化し、さまざまな炎症性疾患（関節リウマチ、炎症性腸疾患など）を改善させることが示されている。

我々はこれまでに、迷走神経の電気刺激によって、1) 急性腎障害から腎臓が保護されること、2) 保護作用の発揮には $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体 ($\alpha 7$ nAChR; $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor) 陽性の脾細胞が重要であること、3) 迷走神経刺激によって腎臓に浸潤したマクロファージの形質が $\alpha 7$ nAChR 依存的に変化すること、を見出した (Inoue, Abe et al. J Clin Invest. 2016)。また、延髄 C1 ニューロンをオプトジェネティクス法にて特異的に刺激することでも同経路を介した腎保護作用がみられ、この経路には $\beta 2$ アドレナリン受容体 ($\beta 2$ AR; $\beta 2$ adrenergic receptor) を持つ CD4 陽性 T 細胞が重要であることを示してきた (Abe, Inoue et al. Nat Neurosci 2017)。しかし、この経路の活性化メカニズムには現時点でも未解明の部分が数多く存在するため、本申請研究では、その解明を目指す。

2. 研究の目的

これまでに、in vitro の実験系にて、 $\alpha 7$ nAChR 陽性マクロファージの抗炎症作用は示されているものの、そのメカニズムには不明な点が多い。我々は既に、迷走神経刺激によって腎臓内マクロファージの形質が M2 型（抗炎症）に変化することを見出している。そこで、本研究では、 $\alpha 7$ nAChR 刺激後の抗炎症作用に関わる新規の因子を、網羅的解析 (RNA-seq) などを行うことで同定を目指す。

3. 研究の方法

系を単純化するために、野生型マウスおよび $\alpha 7$ nAChR ノックアウトマウスからマクロファージを単離し、ニコチン投与（アセチルコリン受容体アゴニスト）を行うことで、コリン性抗炎症経路の活性化を模倣し、RNA-seq を施行する。また、見出した遺伝子の発現調節（過剰発現および発現抑制）を行うことで、遺伝子の機能解析を行う。

4. 研究成果

野生型マウスおよび $\alpha 7$ nAChR (アセチルコリン受容体) ノックアウトマウスより単離したマクロファージを用いて、受容体刺激後(アセチルコリン受容体刺激)移入実験を行った。その結果、受容体を持つ野生型マウスから単離したマクロファージを刺激後移入することによって腎臓が急性腎障害より保護されることを見出した。この保護効果は、 $\alpha 7$ nAChR ノックアウトマウス由来のマクロファージを移入しても認めないことから、 $\alpha 7$ nAChR 陽性マクロファージの生体内での重要性が明らかとなった。

さらに、コリン性抗炎症経路活性化に関わる重要な因子（遺伝子）を新規に同定するために、

野生型マウスおよび $\alpha 7nAChR$ ノックアウトマウスからマクロファージを単離し、ニコチン投与（アセチルコリン受容体アゴニスト）を行うことで、コリン性抗炎症経路の活性化を模倣し、遺伝子発現の網羅的解析(RNA-seq)を行った。得られた結果より、候補の遺伝子の発現調節（過剰発現および発現抑制）を行い、Hes1 (hairy and enhancer of split 1) 遺伝子が $\alpha 7nAChR$ の下流遺伝子であることを同定した。実際、Hes1 遺伝子の過剰発現マクロファージの移入によって腎臓が保護されることを確認している。

また、腎障害モデルとして臨床的にも非常に重要なシスプラチン腎症モデル（抗癌剤による腎症モデル）を用いて、腎障害後の迷走神経刺激の効果についても評価を行なった。その結果、シスプラチン投与後でも迷走神経刺激により腎保護効果を認め、その保護効果発揮には、マクロファージ遊走に関わるケモカインである CCL2 が関与していることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Inoue Tsuyoshi、Maekawa Hiroshi、Inagi Reiko	4. 巻 95
2. 論文標題 Organelle crosstalk in the kidney	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 1318 ~ 1325
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.kint.2018.11.035	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 Inoue Tsuyoshi、Tanaka Shinji、Rosin Diane L.、Okusa Mark D.	4. 巻 9
2. 論文標題 Bioelectronic Approaches to Control Neuroimmune Interactions in Acute Kidney Injury	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine	6. 最初と最後の頁 a034231 ~ a034231
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/cshperspect.a034231	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 Hasegawa Sho、Inoue Tsuyoshi、Inagi Reiko	4. 巻 38
2. 論文標題 Neuroimmune interactions and kidney disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Kidney Research and Clinical Practice	6. 最初と最後の頁 282 ~ 294
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.23876/j.krcp.19.014	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 Maekawa Hiroshi、Inoue Tsuyoshi、Ouchi Haruki、Jao Tzu-Ming、Inoue Reiko、Nishi Hiroshi、Fujii Rie、Ishidate Fumiyoshi、Tanaka Tetsuhiro、Tanaka Yosuke、Hirokawa Nobutaka、Nangaku Masaomi、Inagi Reiko	4. 巻 29
2. 論文標題 Mitochondrial Damage Causes Inflammation via cGAS-STING Signaling in Acute Kidney Injury	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 1261 ~ 1273.e6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2019.09.050	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 Higashijima Yoshiki, Matsui Yusuke, Shimamura Teppei, Nakaki Ryo, Nagai Nao, Tsutsumi Shuichi, Abe Yohei, Inoue Tsuyoshi, Nangaku Masaomi, Kimura Hiroshi, Furukawa Tetsushi, Aburatani Hiroyuki, Wada Youichiro, Ruan Yijun, Glass Christopher K, Kanki Yasuharu	4. 巻 39
2. 論文標題 Coordinated demethylation of H3K9 and H3K27 is required for rapid inflammatory responses of endothelial cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	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) 10.15252/embj.2019103949	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 Inoue Tsuyoshi, Abe Chikara, Kohro Takahide, Tanaka Shinji, Huang Liping, Yao Junlan, Zheng Shuqiu, Ye Hong, Inagi Reiko, Stornetta Ruth L., Rosin Diane L., Nangaku Masaomi, Wada Youichiro, Okusa Mark D.	4. 巻 95
2. 論文標題 Non-canonical cholinergic anti-inflammatory pathway-mediated activation of peritoneal macrophages induces Hes1 and blocks ischemia/reperfusion injury in the kidney	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 563 ~ 576
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.kint.2018.09.020	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 Jao Tzu-Ming, Nangaku Masaomi, Wu Chia-Hsien, Sugahara Mai, Saito Hisako, Maekawa Hiroshi, Ishimoto Yu, Aoe Mari, Inoue Tsuyoshi, Tanaka Tetsuhiro, Staelens Bart, Mori Kazutoshi, Inagi Reiko	4. 巻 95
2. 論文標題 ATF6 downregulation of PPAR promotes lipotoxicity-induced tubulointerstitial fibrosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 577 ~ 589
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.kint.2018.09.023	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7件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 井上剛
2. 発表標題 急性腎障害における脳腎連関
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上剛
2. 発表標題 腎障害における神経系と免疫系の関連
3. 学会等名 第28回日本病態生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上剛
2. 発表標題 Renal protective effect through nervous and immune systems
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上剛
2. 発表標題 急性腎障害における神経系-免疫系の関連
3. 学会等名 第49回日本腎臓学会西部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上剛
2. 発表標題 Neural-renal linkage through the immune system
3. 学会等名 第42回日本分子生物学学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上剛
2. 発表標題 神経系 - 免疫系を介した腎保護メカニズム
3. 学会等名 第48回関東腎研究会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上剛
2. 発表標題 Neuro-immune axis on kidney disease
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会 (招待講演)
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