

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：平成 23 年度～平成 24 年度

課題番号：23790931

研究課題名（和文） 肺腎連関における Toll-like 受容体 4 の関与

研究課題名（英文） Role of Toll-like receptor 4 in kidney-lung crosstalk

研究代表者

土井 研人 (DOI KENT)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80505892

研究成果の概要（和文）：

医療の進歩にもかかわらず高い死亡率を示す多臓器不全のなかでも、急性腎障害と急性呼吸不全を併発した場合の予後は極めて悪い。この2つの臓器不全は独立して進行しているのではなく、腎臓と肺の臓器連関(organ crosstalk)により相乗的に悪化している可能性が示唆されている。本研究では、LPSの受容体として広く知られている Toll-like 受容体 4 (TLR4)および好中球エラスターゼに着目し、急性腎障害が肺病変を増悪させる分子メカニズムを解明することを目的とした。

Toll-like 受容体 4 (TLR4)機能喪失変異マウス(C3H/HeJ)および野生型マウス(C3H/HeN)を用いて両腎摘モデルを作成、野生型マウスと比較して、変異マウスにおいて血漿および肺組織における好中球エラスターゼ活性が有意に低値であることを見出した。また、TLR4 リガンドとして知られている HMGB-1 の血中濃度が両腎摘により上昇することを明らかにした。さらに HMGB-1 中和抗体を両腎摘マウスに投与したところ、C3H/HeN マウスにおいてのみ肺における臓器保護作用が認められた。これらの結果から、両腎摘によって惹起された好中球浸潤を主体とした急性肺傷害は、HMGB-1 と TLR4 を介した Pathway により制御されていることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

Acute lung injury (ALI) and acute kidney injury (AKI) are severe complications in critically ill patients. These two organ dysfunctions synergistically increase mortality in intensive care units. Organ cross-talk between the kidney and the lung has been suggested recently as amplifying each organ injury. This study was conducted to identify a possible mechanism of AKI-induced ALI using a mouse bilateral nephrectomy (BNx) model. Toll-like receptor 4 (TLR4)-mutant C3He/J mice were resistant to lung injury including neutrophil infiltration and increased neutrophil elastase (NE) activity caused by BNx. High-mobility group protein B1 (HMGB1) is one of the agonists for TLR4. Its blood concentrations were increased significantly by BNx. Blockade of HMGB1 by neutralizing antibody reduced lung injury not in TLR4-mutant C3He/J but in TLR4-wild type C3He/N mice. These data suggest that enhanced HMGB1-TLR4 pathway contributes to lung injury induced by BNx. Targeting the HMGB1-TLR4 pathway will enable development of a new therapeutic strategy to improve the outcome of severely ill patients with ALI and AKI.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：腎臓学、急性腎障害

1. 研究開始当初の背景

医療の進歩に伴い高齢者などのハイリスク群にも積極的に侵襲的治療が適応されるようになり、その結果として ICU における多臓器不全の発症頻度はこの数十年間でほとんど減少していない。しかも依然として高い死亡率を呈する多臓器不全に対する新規治療法の開発は重要な課題である。近年提唱されている AKI (acute kidney injury) という概念は、ICU における多臓器不全の一つとして発症した急性腎不全 (acute renal failure; ARF) と考えられているが、AKI 症例においては ARDS/ALI (acute respiratory distress syndrome/acute lung injury) を高頻度に合併し、その場合の高い死亡率は 60~80% 程度と極めて高いことが報告されている。

多臓器不全における organ crosstalk という概念が提唱されるようになり、慢性腎臓病 (CKD) と心血管合併症における心腎連関については様々なメカニズムが存在することが明らかになってきた。一方、集中治療・ICU 領域における肺腎連関のメカニズムについても近年検討が加えられつつある。古典的には尿毒症性肺 (uremic lung) という病態が肺腎連関を意味するものであったが、uremic lung には血管透過性亢進という因子に加えて、体液過剰による volume overload の病態と好中球活性化などの炎症による病態が混在しており、末期腎不全症例に生じる uremic lung には前者が、ICU において AKI に合併して発症した ARDS/ALI においては後者が重要であることが指摘されている。

我々はマウス両腎摘モデルを用いた解析により、AKI により惹起された肺病変においては多数の好中球浸潤を認めるのに加えて、血中および肺組織における好中球エラストラーゼ (NE) 活性が上昇していることを発見した。さらに特異的 NE 阻害薬により炎症性サイトカイン産生や血管透過性亢進といった肺傷害が軽減することを報告した (Am J

Pathol, 177:1665,2010)。

しかし、AKI が NE 活性上昇を来して ARDS/ALI の病態をきたす分子メカニズムは未だ明らかにできていない。また、AKI 合併の有無を問わず ARDS/ALI 症例を対象とした RCT では、特異的 NE 阻害薬 (エラスポール®) の有用性が証明されておらず (Crit Care Med 32:1695,2004)、NE 阻害薬投与以外のアプローチや responder/non-responder の判別の必要性が指摘されている。

2. 研究の目的

LPS の受容体として広く知られている Toll-like 受容体 4 (TLR4) および好中球エラストラーゼに着目し、急性腎障害が肺病変を増悪させる分子メカニズムを解明するとともに、TLR4 および関連分子をターゲットとした新規治療戦略の開発に寄与する知見を得ることを目的とする。

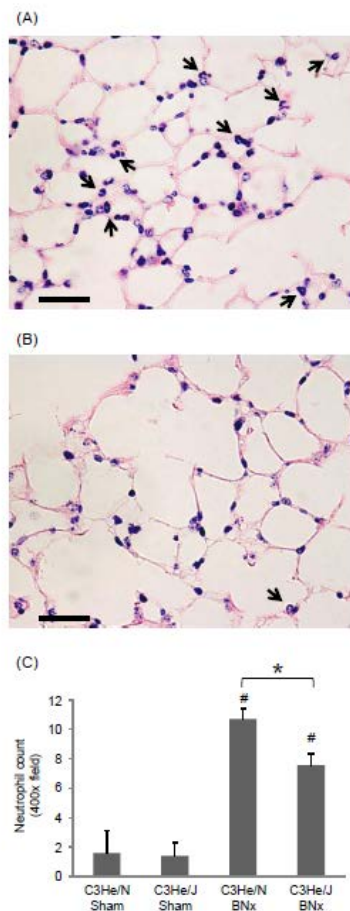
3. 研究の方法

TLR4 機能喪失変異マウス (C3H/HeJ) および野生型マウス (C3H/HeN) を用いて、両腎摘モデルを作成し、急性腎障害による肺病変の発症メカニズムに TLR4 が関与していることを証明する。次に、TLR4 リガンドとして知られている HMGB-1 が急性腎障害においてどのような変化を示すかについて明らかにし、TLR4 関連シグナルを制御することで急性腎障害における肺病変進展の抑制を試みる。

4. 研究成果

TLR4 機能喪失変異マウス (C3H/HeJ) を用いて両腎摘モデルを作成し、両腎摘による NE 活性上昇を検討した。NE 活性上昇は変異マウスでは抑制された (図 1)。

図 1 両腎摘モデルにおける血中(A)および肺(B)NE活性



さらに、変異マウスにおいて病理組織における好中球浸潤 (図2)、炎症性サイトカイン発現 (図3) が軽減することを確認した。

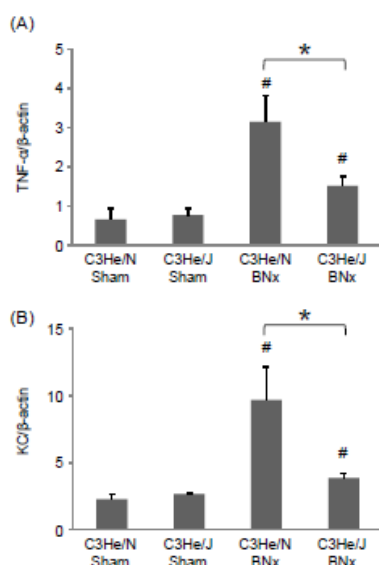
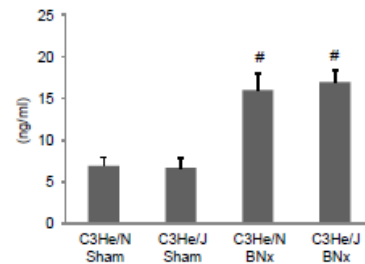


図 2 野生型マウス(A)および変異マウス(B)の肺組織における好中球浸潤と細胞数カ

ウント(C)

図 3 肺組織における TNF-alpha および KC (IL-8) の発現

TLR4 リガンドである HMGB-1 の血中濃度を検討したところ、変異マウスおよび野生

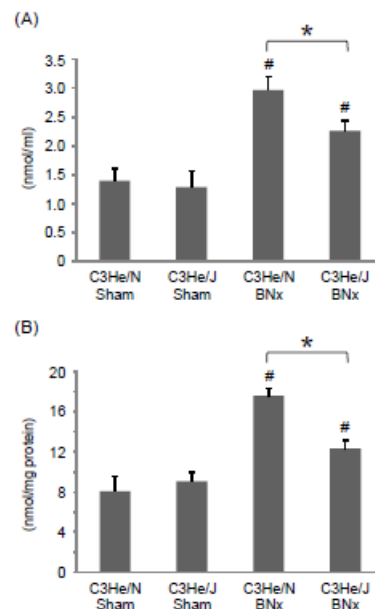


型マウスにおいて両腎摘により上昇し、両群に有意差は見られなかった (図4)。

図 4 両腎摘マウスにおける血中 HMGB-1 濃度

さらに HMGB-1 中和抗体を両腎摘マウスに投与したところ、C3H/HeN マウスにおいてのみ肺における臓器保護作用が認められた。これらの知見から両腎摘によって惹起された好中球浸潤を主体とした急性肺傷害は、HMGB-1 と TLR4 を介した Pathway により制御されていることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等



(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

HMGB-1-TLR4 pathway contributes to acute lung injury induced by bilateral nephrectomy

Kent Doi, Tomoko Ishizu, Emi Ogasawara, Yoshifumi Hamasaki, Naoki Yahagi, Masaomi Nangaku, Eisei Noiri
(投稿中)

〔学会発表〕(計 1 件)

Role of Toll-like receptor 4 and HMGB-1 in kidney-lung crosstalk

Kent Doi, Tomoko Ishizu, Emi Ogasawara, Yoshifumi Hamasaki, Naoki Yahagi, Masaomi Nangaku, Eisei Noiri
米国腎臓学会 2013 年学術集会
(抄録提出中)

6. 研究組織

(1)研究代表者

土井 研人 (DOI KENT)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80505892