

腎疾患の伸展に自然炎症が果たす役割に着目した新規治療の開発

京都大学 腎臓内科学

院内助教 栗原 孝成

はじめに

慢性腎臓病（CKD）は本邦において1,300万人を超え、CKDから透析へ移行する患者数は年間38,000人前後を推移しており、生活の質および医療経済などといった面で多大な影響を及ぼしている。その克服は大きな課題であり、RAS阻害を主体とする適切な降圧療法や生活指導などに加えて新しい観点からの治療法開発が望まれている。内因性リガンドと病原体センサー間の相互作用による慢性炎症（自然炎症）は生活習慣病やガンなど現代病の発症に重要であることが明らかされつつある中で¹⁾、腎臓における役割は不明であった。最近我々は自然炎症に重要な役割を果たすtoll-like receptor 4（TLR4）が糖尿病性腎症の進展に重要であることを明らかにし、TLR4の強力な内因性リガンドの一つであるmyeloid-related protein 8（MRP8）がその病態に重要な可能性を報告した²⁾。MRP8の主要産生細胞はマクロファージ（Mφ）を主体とする炎症細胞であり、様々な機序が糖脂肪毒性によるMRP8発現誘導に関わっていることが明らかとなっており³⁾（図1）、実際過去最大規模の1型糖尿病患者および非糖尿病コントロール約2,000例を対象とした検討により、末梢血白血球のMRP8発現が腎症を含む種々の臓器合併症

症のリスクと関わる最上位の分子であることが昨年報告された⁴⁾。しなしながらCKDにおける内因性リガンドMRP8の役割あるいは腎組織における発現誘導の機序について詳細は明らかになっていない。本研究ではCKDに繋がる腎疾患、特に糸球体障害において自然炎症が果たす役割を明らかにすることを目的として検討を行った。

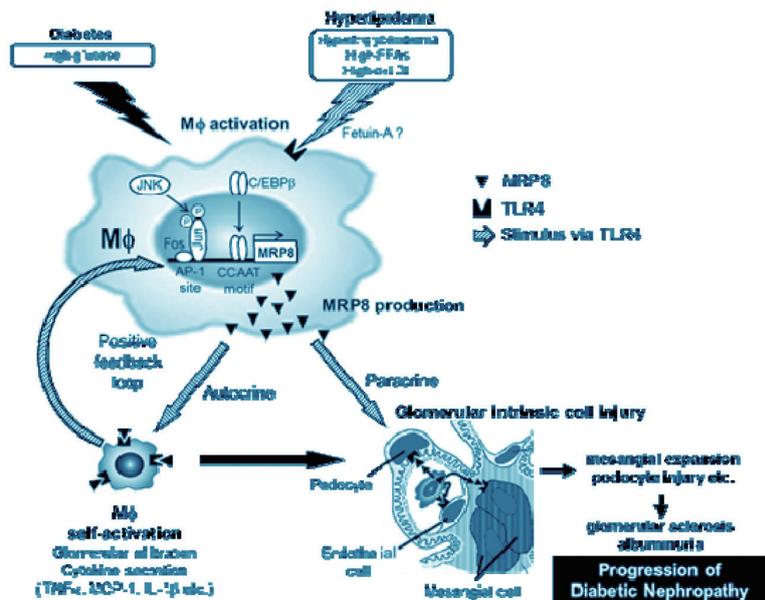


図1: Mφにおいて糖脂肪毒性がMRP8発現誘導を起こす機序。糖と脂肪による同時刺激はJNKのリン酸化、C/EBPβ、TRIF-dependent経路など複数のメカニズムによりMRP8の発現誘導を相乗的に起こす。

結 果

糖尿病性腎症におけるMRP8/TLR4シグナルを検討する中で我々は糖尿病性腎症モデルマウス腎組織内に浸潤したMφのMRP8陽性率を検討したところ、糸球体浸潤Mφは尿細管間質浸潤Mφと比べて明らかにMRP8陽性率が高いことを見出した(図2)。この結果はMφにおけるMRP8産生が糖脂肪毒性を含む全身性の影響のみならず、傷害糸球体局所で誘導される可能性を示唆していると考えられた。これに基づいて、糸球体傷害モデルである半月体形成性腎炎におけるMRP8の意義を検討した。全身性MRP8欠損マウスは胎生致死であるため⁵⁾、Cre-lox Pシステムを用いて臓器特異的MRP8欠損マウスを作成した。MRP8の主要産生細胞はMφを含む骨髄由来細胞であることはすでに確認していたため²⁾、floxed-MRP8マウスと骨髄特異的Cre産生マウスであるLysozymeM-Creマウスを交配することで骨髄細胞特異的MRP8欠損マウス(MyMRP8cKO)を作成し、これにウサギ抗マウス糸球体抗体を投与して半月体形成性腎炎を誘導して検討した。Creを有さないコントロールマウスで半月体形成部分に認めるMRP8陽性細胞の集簇を示すシグナルがMyMRP8cKOマウスでは明らかに抑制されていた。これと同時にMyMRP8cKOマウスはコントロールマウスと比べて腎炎誘導後12日目の尿蛋白量が明らかに抑制されていた(図3)。

MRP8 / Mac2 ratio

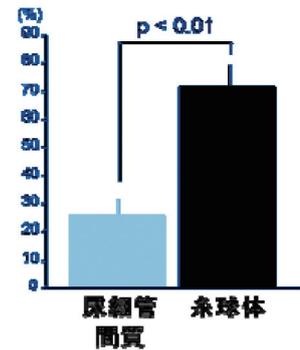


図2: STZ+HFD糖尿病高脂血症合併モデルマウス腎組織浸潤MφのMRP8陽性率の検討。糸球体浸潤Mφは尿細管間質浸潤Mφと比較して明らかにMRP8陽性率が高値であった。

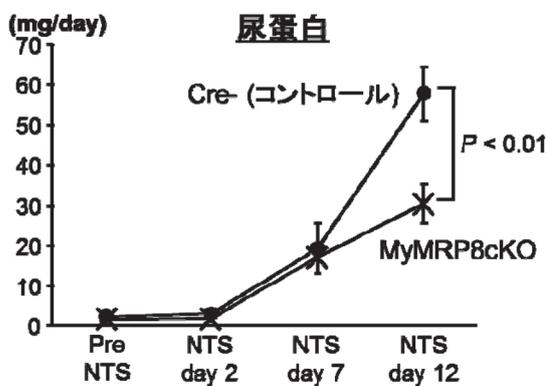


図3: 半月体形成性腎炎モデルにおける尿蛋白の検討

骨髄系細胞特異的MRP8 cKOマウスでは尿蛋白が有意に軽減していた。

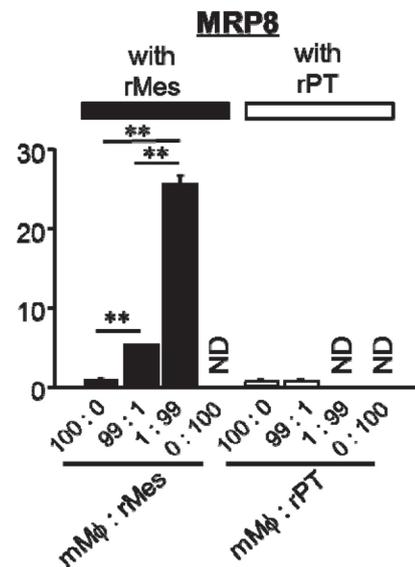


図4: マウスMφと腎内在細胞(ラットメサンギウム細胞、ラット近位尿細管細胞)との共培養がMRP8発現に与える影響の検討。MRP8遺伝子の発現はマウス遺伝子特異的に検出することでMφの遺伝子発現を特異的に検出する系としている。MRP8はrMesと共存したときのみ非常に強い発現誘導が認められた。mMφ, mouse Mφ; rMes, rat mesangial cell; rPT, rat proximal tubular cell, ND, not detected, **P < 0.01.

次に糸球体局所におけるMRP8発現誘導の詳細を検討する目的でMφと腎臓内在細胞であるメサングウム細胞、近位尿細管細胞との共培養実験を行った(図4)。MφのMRP8発現は近位尿細管細胞と共存しても影響を受けない一方、メサングウム細胞と共存することで強い発現誘導を受けることが確認された。

考 察

内因性リガンドMRP8は糖脂肪毒性による全身性の発現誘導機序に加え、糸球体内細胞間クロストークにより傷害糸球体局所で発現誘導される機序が考えられた。さらに今回組織特異的MRP8欠損マウスを作成、用いたことにより初めてMRP8の意義について直接的な検討が可能となった。骨髄細胞におけるMRP8の欠損は半月体形成性腎炎モデルにおける腎症を軽減した。

要 約

糸球体腎炎は本邦における透析導入原疾患として糖尿病性腎症に続く第2位を占める疾患である。中でも半月体形成性腎炎は腎予後のみならず生命予後も脅かされる予後不良疾患であり、特に高齢者での発症が多いことで知られている。現在ステロイド、免疫抑制剤が治療の主体となっているが、感染合併による死亡例が後を絶たず、治療を断念せざるを得ないケースも多く認められる。内因性リガンドを治療標的とする新しい治療戦略は新規創薬につながる可能性が期待される。今回急性期の観察でMRP8欠損による腎症軽減効果が確認された。今後長期的モデルあるいは観察により、慢性化に及ぼす影響を検討する必要がある。

文 献

1. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol.* 11 (2) :98-107, 2011
2. Kuwabara T, Mori K, Mukoyama M, Kasahara M, Yokoi H, Saito Y, Ogawa Y, Imamaki H, Kawanishi T, Ishii A, Koga K, Mori KP, Kato Y, Sugawara A, Nakao K. Exacerbation of diabetic nephropathy by hyperlipidaemia is mediated by Toll-like receptor 4 in mice. *Diabetologia.* 55 (8) :2256-66, 2012
3. Kuwabara T, Mori K, Mukoyama M, Kasahara M, Yokoi H, Nakao K. Macrophage-mediated glucolipotoxicity via myeloid-related protein 8/toll-like receptor 4 signaling in diabetic nephropathy. *ClinExp Nephrol.* 18 (4) :584-92, 2014
4. Jin Y, Sharma A, Carey C, Hopkins D, Wang X, Robertson DG, Bode B, Anderson SW, Reed JC,

- Steed RD, Steed L, She JX. The expression of inflammatory genes is upregulated in peripheral blood of patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 36 (9) :2794-802, 2013
5. Passey RJ, Williams E, Lichanska AM, Wells C, Hu S, Geczy CL, Little MH, Hume DA. A null mutation in the inflammation-associated S100 protein S100A8 causes early resorption of the mouse embryo. *J Immunol*. 163 (4) :2209-16, 1999