

神経免疫相互作用に基づいた慢性腎臓病の進展予防法の開発

東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科
助教（申請時 届出研究員） 田中 真司

（共同研究者）

岐阜大学医学部 生理学 准教授 安部 力

はじめに

慢性腎臓病（Chronic Kidney Disease：CKD）は世界人口の約1割が有しており、特に高齢者では加齢に伴う腎機能低下のためCKDを有する割合がさらに大きく、末期腎不全に至ると透析が必要となるため、心血管病発症リスク・生活の質・医療経済など様々な観点から喫緊の臨床課題である。しかし現在の治療戦略は血压管理など非特異的なものに限定されている。

2017年にNature Immunology/Nature Neuroscienceが合同特集を行うなど、神経系と免疫系の相互作用は様々な臓器で注目されており、その中でも迷走神経刺激（Vagus Nerve Stimulation：VNS）は炎症性腸疾患や関節リウマチの臨床試験でも有効性が示され、臨床応用が非常に期待されている。

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ンネルが開口し、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。申請者は留学先（前所属先）で、オプトジェネティクスを利用した選択的VNSの系を確立し、VNSが急性腎障害に対し保護効果を有することを報告した⁽¹⁾。しかし、動物実験において侵襲的なVNS手術の反復は難しく、炎症が進展に重要な役割を果たすCKDでの有効性は不明であった。本研究は非侵襲的に反復的にマウスにVNSを施行する方法を確立し、VNSのCKDに対する効果を明らかにすることを目的とした。

波長が短い青色光は透過度が低いため、非侵襲的に体外から皮膚などを通して青色光を頸部迷走神経に照射することは不可能である。一方、近赤外光など透過度の高い長波長光を用いれば体外から照射しても頸部迷走神経に到達するが、そのような長波長光に反応する光感受性タンパクは現在のところ知られていない。そこで申請者は、アップコンバージョンナノ粒子を用いて両者を組み合わせることを着想した。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⁽²⁾、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。すなわち、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ておき、そこに近赤外光を体外から照射すると、

ナノ粒子から放出される青色光でChR2発現神経が興奮する、という戦略である(図1)。

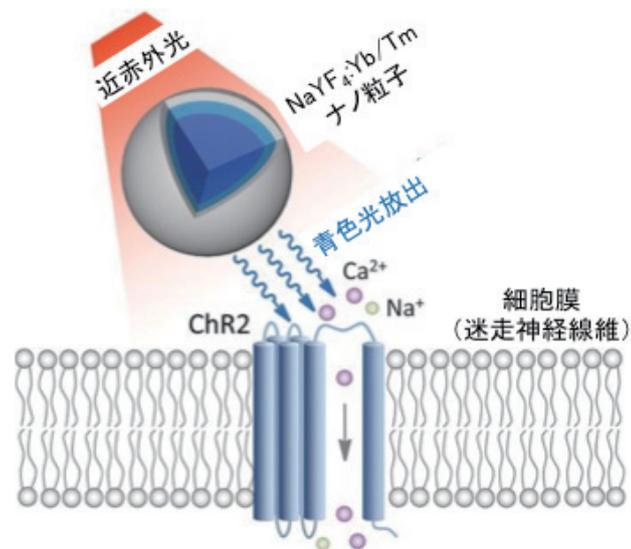


図1 本研究の戦略:ChR2を発現する迷走神経線維にNaYF₄:Yb/Tmナノ粒子を局所投与し近赤外光を照射すると、ナノ粒子から放出される青色光で神経が興奮する

結 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980nmの近赤外光を照射したところ、青色光が観察された(図2)。

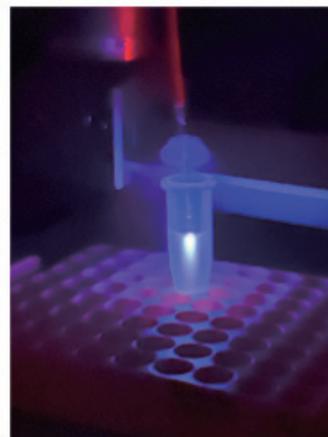


図2 アップコンバージョンによる青色光放出
NaYF₄:Yb/Tmナノ粒子を含む液体に近赤外光(波長: 980 nm)を照射すると、青色光が放出された。

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3)、*Vglut2-ChR2* マウスでは呼吸数・心拍数ともに低下した (図4；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。現在は、迷走神経に直接近赤外光を照射するのではなく、皮膚を介して照射し同様の生理学的パラメータの変化が観察できるよう、条件検討中である。

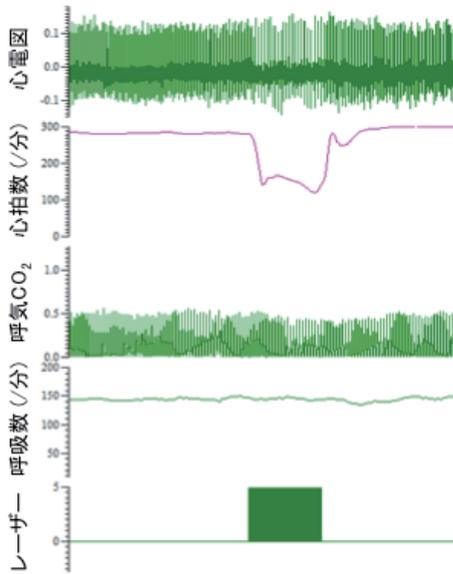


図3 *Chat-ChR2* マウスにおける心拍数低下
Chat-ChR2 マウスの頸部迷走神経に $\text{NaYF}_4:\text{Yb}/\text{Tm}$ ナノ粒子を局所投与し近赤外光 (波長: 980 nm) を照射すると、心拍数低下のみが観察された。

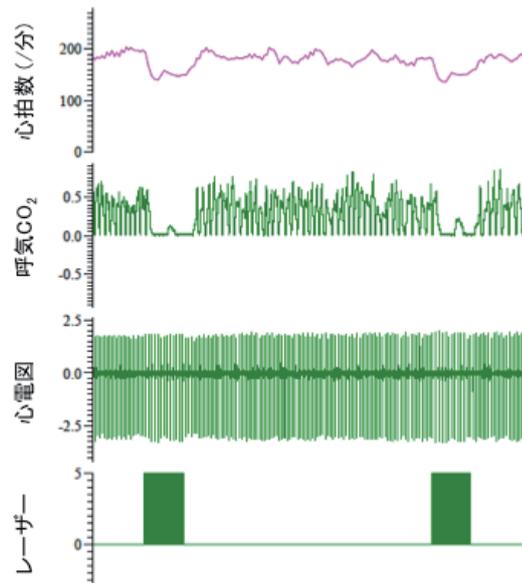


図4 *Vglut2-ChR2* マウスにおける呼吸数・心拍数低下
Vglut2-ChR2 マウスの頸部迷走神経に $\text{NaYF}_4:\text{Yb}/\text{Tm}$ ナノ粒子を局所投与し近赤外光 (波長: 980 nm) を照射すると、呼吸数・心拍数ともに低下した。

さらに、留学中に見出した VNS による急性腎障害に対する保護作用が現在の研究環境においても認められるかについて検討したところ、以前と同一の条件で同程度の腎保護効果が得られることが確認できた (図5)。

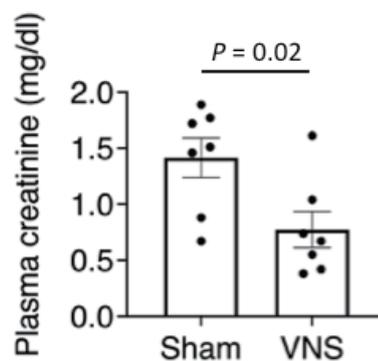


図5 迷走神経電気刺激による腎保護作用の確認
野生型マウスの左頸部迷走神経を露出し、10分間電気刺激をおこなった。
24時間後両側腎虚血再灌流モデルを作成し、その24時間後に
血漿クレアチニン (腎機能障害のマーカー) を測定した。

考 察

アップコンバージョンナノ粒子と近赤外光を組み合わせることにより、非侵襲的に体外からChR2発現線維を刺激できる可能性が示唆された。今後皮膚を介した近赤外光照射の条件を確立し、CKD進展予防におけるVNSの有効性が示されれば、CKD患者を対象としたVNSの臨床研究を行う重要な足がかりとなる。さらに本研究の成果は、広く神経の反復的操作に応用できるため、神経刺激・抑制の有効性を幅広い疾患で検証でき、他分野に与える影響も大きいと考えられる。

要 約

本研究により、アップコンバージョン技術を利用した非侵襲的VNSのproof of conceptが達成された。

文 献

1. Tanaka S, Abe C, Abbott SBG, Zheng S, Yamaoka Y, Lipsey JE, Skrypnik NI, Yao J, Inoue T, Nash WT, Stornetta DS, Rosin DL, Stornetta RL, Guyenet PG, Okusa MD. Vagus nerve stimulation activates two distinct neuroimmune circuits converging in the spleen to protect mice from kidney injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 118 (12) :e2021758118, 2021.
2. Chen S, Weitemier AZ, Zeng X, He L, Wang X, Tao Y, Huang AJY, Hashimoto-dani Y, Kano M, Iwasaki H, Parajuli LK, Okabe S, Teh DBL, All AH, Tsutsui-Kimura I, Tanaka KF, Liu X, McHugh TJ. Near-infrared deep brain stimulation via upconversion nanoparticle-mediated optogenetics. *Science*. 359 (6376) :679-684, 2018.