

# NKG2Dシグナルをターゲットとした DNA 損傷ポドサイトに起因する慢性腎臓病治療

慶應義塾大学医学部内科学教室腎臓内分泌代謝科

助教 中道 蘭

(共同研究者)

慶應義塾大学医学部 内科学教室 腎臓内分泌代謝科

教授 林 香

慶應義塾大学医学部 内科学教室 腎臓内分泌代謝科

助教 丸木 友美

## はじめに

慢性腎臓病 (Chronic kidney disease, CKD) は人口の高齢化を背景に増加しており、今や日本において8人に1人がCKDであると報告されている。CKDは慢性進行性の疾患で、末期腎不全に至るリスクだけでなく、心血管疾患の重大なリスクになることから、生命予後に大きな影響を及ぼす。申請者のグループではこれまで、マウスモデルを用いポドサイトにおけるDNA損傷と慢性腎臓病病態の関連について報告してきた。(Cell Rep 2019, Cell Rep 2023) さらにヒト検体を用いた検討においてもIgA腎症や糖尿病性腎症等さまざまな慢性腎臓病病態においてポドサイトのDNA損傷が関与していることを報告している (Sci Rep 2020, Hypertension Res 2022)。申請者らはさらに、純粋なポドサイトにおける二本鎖DNA切断 (DSB) の影響を評価するために、ポドサイト特異的にDNA切断酵素 I-PpoIを発現したマウス (以下I-PpoIマウス) を作製し、解析を行った。ポドサイトにおけるDNA損傷により誘導されるNKG2DリガンドはNKG2D受容体を介しCD8<sup>+</sup>T細胞とのクロストークにより、慢性腎臓病病態に寄与することを明らかとした。しかし、このNKG2D<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T細胞活性化の全身的影響については、未解明である。本研究では、糖尿病やネフローゼ症候群など臨床的に関連の高い腎疾患モデルを用いて、NKG2Dシグナル遮断の治療効果がCKD進展および心機能に及ぼす影響を検討することを目的とした。さらに、この治療戦略の恩恵を受ける患者を選択するための非侵襲的な予測バイオマーカーの確立を目指す。

## 結 果

### 方法(Methods)

NKG2D中和抗体 (CX5, 200  $\mu$ gを週2回腹腔内投与) を、db/dbマウス、STZ誘発糖尿病マウス、およびADR腎症マウスに投与し、治療効果を評価した。全身的な影響を評価するため、I-PpoIマウスにおいて心機能 (LVEFおよびFS) を測定し、CX5投与後の変化を解析した。さらに、25例の腎生検患者を対象に、糸球体におけるNKG2DリガンドMICA発

現と血清中可溶性MICA (sMICA) 濃度および腎病理像との関連を検討した。

また、40例のCKD外来患者を対象に予後解析を行い、sMICAを非侵襲的なバイオマーカーとして評価した。

## 結果(Results)

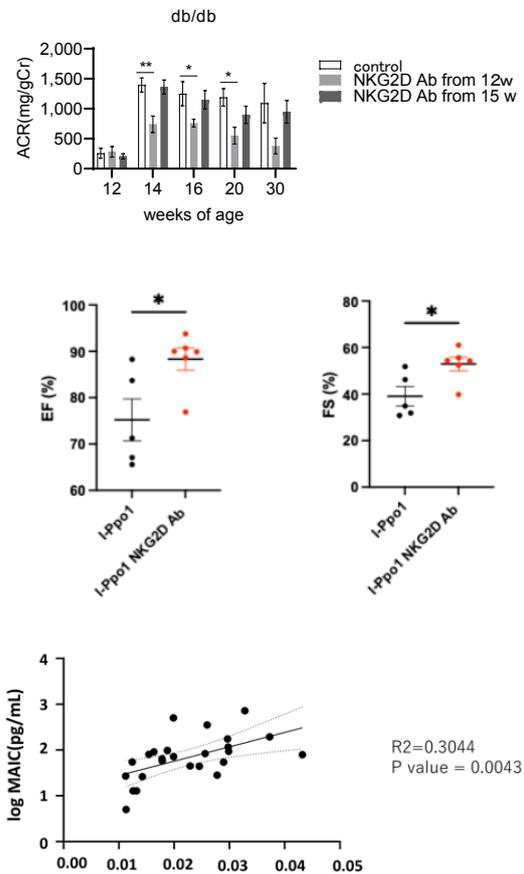
db/dbマウスでは、腎組織内のWT-1<sup>+</sup>γH2AX<sup>+</sup>細胞が有意に増加しており、本モデルでポドサイトのDNA二本鎖切断(DSBs)が蓄積していることが示唆された。CX5をdb/dbマウスに投与すると、蛋白尿が抑制され、糸球体硬化が改善した。さらに、CX5はSTZマウスおよびADR腎症マウスのいずれにおいてもアルブミン尿を減少させ、ポドサイト障害を伴うCKDに対して広範な有効性を示した。

I-PpoIマウスの末梢血ではNKG2D<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T細胞が増加しており、ポドサイトDNA損傷によって活性化されたNKG2Dシグナルが全身的なT細胞活性化に関与している可能性が示唆された。I-PpoIマウスおよびdb/dbマウスの心機能評価では、LVEFおよびFSの低下が認められたが、CX5投与によりこれらの指標は有意に改善した。このことから、ポドサイトDNA損傷に起因するNKG2Dシグナルが心腎連関に関与していることが示唆された。

25例の腎生検患者の解析では、血清sMICA濃度が糸球体MICA発現および腎病理(T細胞浸潤、線維化、尿細管萎縮)と有意に相関しており、sMICAがポドサイトDNA損傷と腎炎症を反映する指標であることが示唆された。さらに、40例のCKD外来患者において、sMICA濃度はeGFR低下率と負の相関を示し、特にプロテアーゼADAM10を組み合わせることでその相関はさらに強化された。これらの結果は、sMICAが患者選択および予後予測に有用な非侵襲的バイオマーカーとなる可能性を支持している。

## 考 察

NKG2Dシグナルの抑制は、ポドサイト障害を伴う多様な腎疾患の進行を抑制する有望な治療戦略であり、ポドサイトDNA損傷に由来する心腎連関(cardio-renal axis)を遮断することで、腎疾患と心疾患の双方を包括的に治療し得る可能性が示唆された。特に、糖尿病患者における心腎合併症の悪化を抑える新たな治療アプローチとして期待される。さらに、可



溶性NKG2DリガンドであるsMICAは、ポドサイト由来の免疫原性を反映し、腎予後を予測する非侵襲的バイオマーカーとして有用であることが示された。

## 要 約

本研究では、ポドサイトDNA損傷により誘導されるNKG2Dシグナルが腎障害と心腎連関を介して全身病態に関与する機構を明らかにした。NKG2D中和抗体 CX5の投与により蛋白尿、糸球体硬化、心機能低下が改善し、NKG2Dシグナル遮断が多様なCKDモデルで有効であった。さらに、血清sMICAが糸球体MICA発現やeGFR低下率と相関し、非侵襲的バイオマーカーとして有用である可能性が示された。

これらの結果から、NKG2Dシグナル抑制はCKDと心疾患を包括的に制御し得る新規治療戦略となることが示唆された。

## 文 献

1. A Hishikawa, E Yoshida-Hama, **R Nakamichi**, M Kihara, T Abe, N Yoshimoto, E Sugita-Nishimura, H Itoh, K Hayashi. Predicting exacerbation of renal function by DNA methylation clock and DNA damage of urinary shedding cells: a pilot study. *Sci Rep*. 2024 May 21;14(1):11530.
2. E Yoshida-Hama, **R Nakamichi(co-first)**, A Hishikawa, M Kihara, T Abe, N Yoshimoto, E Sugita-Nishimura, H Itoh, K Hayashi. Podocyte Ercc1 is indispensable for glomerular integrity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2024 Apr 16;704:149713.
3. **R Nakamichi**, A Hishikawa, S Chikuma, A Yoshimura, T Sasaki, A Hashiguchi, T Abe, T Tokuhara, N Yoshimoto, E Sugita Nishimura, E Yoshida Hama, T Azegami, T Nakayama, K Hayashi , Hiroshi Itoh. DNA damaged podocyte-CD8 T cell crosstalk exacerbates kidney injury by altering DNA methylation. *Cell Rep* 2023 Mar 28;42(4):112302
4. N Yoshimoto, K Hayashi, A Hishikawa, A Hashiguchi, **R Nakamichi**, E Sugita-Nishimura, E Yoshida-Hama, T Azegami, T Nakayama, H Itoh. Significance of podocyte DNA damage and glomerular DNA methylation in CKD patients with proteinuria. *Hypertens Res*. 2023 Jan 17.
5. A Hishikawa, K Hayashi, A Kubo, K Miyashita, A Hashiguchi, K Kinouchi, N Yoshimoto, **R Nakamichi**, R Akashio, E Sugita, T Azegami, T Monkawa, M Suematsu, H Itoh. DNA repair factor KAT5 prevents ischemic acute kidney injury through glomerular filtration regulation. *iScience*. 2021 Nov 14;24(12):103436.
6. **Nakamichi R**, Hayashi K, Itoh H. Effects of High Glucose and Lipotoxicity on Diabetic Podocytes, *Neutrients*. 2021 Jan 15;13(1):241.
7. Hishikawa A, Hayashi K, Yoshimoto N, **Nakamichi R**, Homma K, Itoh H. DNA damage and expression of DNA methylation modulators in urine-derived cells of patients with hypertension and diabetes. *Sci Rep*, 2020: 10(1) 3377

8. Hayashi K, Hishikawa A, Hashiguchi A, Azegami T, Yoshimoto N, **Nakamichi R**, Tokuyama H, Itoh H. Association of glomerular DNA damage and DNA methylation with one-year eGFR decline in IgA nephropathy. *Sci Rep*, 2020: 10(1) 237