

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Interleukin-36 α as a potential biomarker for renal tubular damage induced by dietary phosphate load

高リン食による腎尿細管障害へのバイオマーカーとなる IL-36 α の研究

日本医科大学大学院医学研究科 腎臓内科学分野

大学院生 平野 良隆

FEBS Open Bio, volume 10, number 5, 2020, 掲載

DOI 10.1002/2211-5463.12845

リンは生体での必須元素であり、ゲノム、細胞膜、骨の構成成分に含まれるだけでなく、ATPに取り込まれることでエネルギー代謝やシグナル伝達の制御因子となり生命活動における重要な機能を担っている。このリンに関して、生体は腸管吸収、骨からの動員、そして主に腎排泄により、その血中濃度を適切に維持している。近年、このリン恒常性を保つ上で最も重要な腎排泄に負荷を与える過剰なリン摂取が腎障害と関係することが動物実験などから示されており、ヒトにおいても過剰のリン摂取により高齢者や慢性腎臓病患者では急性腎不全の発症に至るケースが報告されている。しかしながら、リン排泄量亢進が腎障害を発症させる機序は未解明である。

申請者の研究室では腎臓からのリン排泄量亢進と腎障害進展の関連性を明らかにするために高リン食あるいは通常食を与えたマウスの腎臓を用いて RNA-sequence を行ったところ、Interleukin-36 α (IL-36 α) の発現が顕著に上昇することを見出した。本研究では、リン負荷による腎障害と IL-36 α 発現誘導の関連について検討を行った。

12週齢の野生型雄マウスに通常食(Pi 0.35%)あるいは高リン食(Pi 2.0%)を与え、10日間、4週間、8週間飼養した後、腎臓を摘出し解析を行った。また、10日間負荷モデルでは、片側腎臓摘出あるいは偽手術の後、0.35%、1.0%、1.5%ならびに2.0%リン含有食を与えた群について解析した。mRNA 発現変動は Quantitative RT-PCR により、蛋白発現変動はイムノブロットにより、腎組織所見については、線維化、石灰化、蛋白発現を解析した。

高リン食を与えた場合、10日目に尿中リン排泄量の亢進を認めた。腎線維化、腎石灰化は高リン食投与4週目より出現し、8週間の負荷で皮髄境界部に顕著に認められた。10日

間にわたり各濃度のリン含有食を摂餌させた片腎摘出あるいは偽手術マウスの腎臓では、Ngal などの腎障害関連マーカーと比べ、IL-36 α mRNA の発現量が餌中のリン含有量の増加に依存して著しく亢進し、その亢進は片腎摘出群の方がより顕著であった。高リン食を 10 日間、4 週間、8 週間摂餌させた野生型マウスの腎臓では、通常食群で認められない IL-36 α mRNA、蛋白発現が摂餌期間に依存して上昇した。連続切片を用いた解析により IL-36 α の発現は遠位尿細管の Klotho および Osteopontin 発現部位と強い重なりを認め、IL-36 α 陽性の尿細管の周囲に F4/80 陽性のマクロファージの集積を認めた。高リン食を 8 週間摂餌させたマウスの腎臓では IL-36 α に関連する Nlrp3 や IL-1 β mRNA の発現に加え、樹状細胞活性化の指標となる Cd11c や Ccr7 mRNA の発現が増加した。

本研究は長時間をかけて腎石灰化や線維化病変を生じさせる高リン食摂取に起因する腎臓のリン排泄亢進が、その初期段階において遠位尿細管での IL-36 α の発現を速やかに誘導することを明らかにした報告である。この IL-36 α は炎症活性化を介して腎障害に関与する可能性が考えられ、IL-36 α の発現誘導は Ngal などの既知の腎障害マーカーと比較して、より鋭敏な応答であることから、リン排泄亢進による腎尿細管障害を検知する有力なバイオマーカーとなる可能性が考えられた。

第二次審査ではリンの作用部位、リンの直接作用の可能性、リンの IL-36 α への作用機序、IL-36 α の役割、他疾患での報告、副甲状腺ホルモンの影響などについての質問があり、いずれも的確な回答を得た。本研究は IL-36 α がリンによる腎障害を検知する有力なバイオマーカーになることを示し、CKD などの腎疾患の発症・進展に関与する可能性があり、将来性の高い研究と考えられ、学位論文として価値あるものと認定した。