

学位論文の要約
(研究成果のまとめ)

氏名
谷野 彰子

学位論文名

腎線維化抑制の新たな治療ターゲットとしてのインターロイキン(IL)-18：アルドステロン-食塩負荷マウスにおいて、IL-18 欠損は腎間質線維化を抑制する

学位論文の要約

【背景】

IL-18はマクロファージ、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、尿細管細胞などの細胞で産生されるIL-1ファミリーに属するサイトカインである。IL-18は前駆体pro-IL-18として産生され、caspase-1による切断を受け活性化する。IL-18は腎虚血再還流障害、移植腎拒絶、自己免疫疾患などの炎症性腎疾患の病態形成に参与している。

ステロイドホルモンの1つであるアルドステロンはミネラルコルチコイド受容体(MR)に結合し、体内のナトリウムやカリウムの調整において中心的な役割を果たしている。アルドステロンの過剰は腎臓の線維化を引き起こすことが報告されている。当教室ではこの腎線維化にオステオポンチン(OPN)が重要な役割を果たしていることを報告している。

心筋においてはアルドステロンがIL-18の産生を促進し、さらにIL-18がOPNを誘導することが報告されている。本研究ではアルドステロンにより誘導される腎線維化におけるIL-18およびOPNの役割に関して検討をおこなった。

【方法】

アルドステロン-食塩負荷マウスモデル(Ald群)として8週齢雄性の野生型マウス(WT)またはIL-18ノックアウトマウス(IL-18KO)の左腎を摘出後、浸透圧ポンプを用いてアルドステロンを投与し、普通餌、1%食塩水で4週間飼育した。4週間後にテイルカフ法で血圧測定を行い、血液、尿、腎臓を採取し、組織学的変化(PAS染色、マッソントリクロム染色)、遺伝子発現(リアルタイムRT-PCR法)、蛋白発現(免疫組織染色、ウェスタンブロットティング、ELISA法)について両マウスで比較した。

ラット尿細管上皮細胞(NRK-52E cells)の培養液中にアルドステロンの添加あるいはアルドステロンとMR拮抗薬であるスピロラク톤の添加を行った。またラット線維芽細胞(NRK-49F cells)の培養液中にリコンビナントIL-18(rIL-18)の添加を行なった。

【結果】

WT Ald群では血圧の上昇を認めたが、IL-18KO Ald群では血圧の上昇を認めなかった。糸球体病変についてはWT Ald群で糸球体の拡大を認め、IL-18KO Ald群でも同様の変化を認めた。尿細管間質病変について、WT Ald群においてマッソントリクロム染色で腎間質に高度の線維化を認めたが、IL-18KO Ald群においては間質線維化が抑制されていた。免疫組織染色による検討で、WT Ald群では腎間質にマクロファージの浸潤(F4/80)、および線維芽細胞(FSP-1)の浸潤、集積を認め、尿細管でのIL-18の発現増加を認めたが、IL-18KO Ald群ではその浸潤、集積、発現増加は抑制されていた。線維化関連因子であるI型コラーゲンおよびIII型コラーゲン遺伝子の遺伝子発現を腎皮質Total RNAを用いてリアルタイムRT-PCR法で解析した。I型、III型コラーゲンともに

WT Ald 群では増加し、IL-18KO Ald 群ではその発現は有意に抑制された。腎線維化と関連する OPN についてもリアルタイム RT-PCR 法、ウェスタンブロット法および免疫組織染色で遺伝子発現、蛋白発現を検討し、WT Ald 群において遺伝子発現増加、尿細管での蛋白発現増加を認めたが、IL-18KO Ald 群ではその発現増加は抑制されていた。また血中、腎皮質中での IL-18 について ELISA 法、および免疫組織染色で蛋白発現を検討し、WT Ald 群は WT と比較して腎皮質での蛋白発現増加を認めた。血中の IL-18 蛋白発現には両群で差は認めなかった。尿細管細胞による検討ではアルドステロンによって直接的に IL-18 の発現が誘導され、この作用は MR 拮抗薬であるスピロノラクトンの添加により阻害された。腎線維芽細胞に rIL-18 の添加を行なっても I 型、III 型、IV 型コラーゲンおよび OPN は誘導されなかった。

【結論】

IL-18 は OPN を介してアルドステロンによる腎線維化を制御していると考えられ、IL-18 は腎線維化進展抑制治療のターゲットとなりうる可能性が示唆された。

なお、この学位論文の内容は以下の原著論文に既に公表済である。

主論文：Akiko Tanino, Takafumi Okura, Tomoaki Nagao, Masayoshi Kukida, Zuowei Pei, Daijiro Enomoto, Ken-ichi Miyoshi, Haruki Okamura, Jitsuo Higaki : Interleukin-18 deficiency protects against renal interstitial fibrosis in aldosterone-salt treated mice.

Clinical Science 130:1727-1739,2016 DOI: 10.1042/CS20160183