

Interleukin-36 $\alpha$  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 $\alpha$ 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 (2020) 掲載

## 【背景】

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必須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って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連関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、リンを主成分とした経口腸管洗浄剤の使用による一過的な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。

そこで、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、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 行い腎障害に関連する遺伝子発現変動を網羅的に解析した。その結果、高リン食摂取群において、これまでに報告のある腎障害に関連する遺伝子の発現変動に加えて、近年、虚血再灌流などによって誘発される腎障害発症時の免疫応答においてその重要性が示唆されている Interleukin-36 $\alpha$  (IL-36 $\alpha$ ) 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 $\alpha$  発現誘導の関連性に関する検討を試みた。

## 【方法】

12 週齢の野生型マウス(雄)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、片側腎臓摘出および偽手術の後、0.35%、1.0%、1.5%ならびに 2.0%リン含有食を与えた群に対して解析を試みた。mRNA 発現変動は qPCR、蛋白質発現変動はイムノブロット、また、病理所見については、Sirius Red 染色、von kossa 染色、免疫染色により、それぞれ線維化、石灰化、蛋白質発現の有無を評価した。

## 【結果】

高リン食を与えた場合、10 日目において尿 P/Cre でのリン排泄量の亢進を認めた。腎線維化は、10 日目では認められず、4 週目以降より進行が認められる結果となった。また、腎石灰化も 4 週目より少量が出現し、8 週間の負荷では皮髄境界部に顕著な亢進が認められた。

10 日間にわたり所定のリン含有食を摂餌させた片腎摘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 $\alpha$  mRNA の発現量が餌中のリン含有量の増加に依存して顕著に亢進し、その亢進は片腎摘群の方がより低いリン含有量の摂餌から認められた。すなわち、リン排泄量の増加に依存して IL-36 $\alpha$  の発現が亢進することが明らかになった。

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 $\alpha$  の mRNA 発現が摂餌期間とともに上昇しており、イムノブロットや免疫染色により検出した IL-36 $\alpha$  蛋白質の発現も mRNA 発現と同様の変動を示した。

また、連続切片を用いた解析より IL-36 $\alpha$  の発現は Klotho およびオステオポンチン発現部位と強い重

なり認められたことから、遠位尿細管であることが明らかとなった。さらに、4週間以上リンを摂取した場合、IL-36 $\alpha$ 陽性の尿細管の周囲にF4/80陽性のマクロファージ細胞の集積を認めるとともに、IL-36 $\alpha$ に関連することが報告されているNlrp3やIL-1 $\beta$  mRNAに加え、樹状細胞活性化の指標となるCd11cやCcr7 mRNAの発現誘導が上昇することを新たに見出した。

#### 【考察】

本研究において、長時間をかけて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でのリン排泄亢進が、その初期段階において遠位尿細管でのIL-36 $\alpha$ の発現を速やかに誘導することを明らかにした。このIL-36 $\alpha$ の発現誘導は、Ngalなどの既知の腎障害マーカーと比較しより鋭敏な応答であることから、リンによるネフロン障害を検知する有力なバイオマーカーになる可能性が考えられた。

IL-36 $\alpha$ は乾癬、COPD、肥満症など様々な疾患と関連があり、IL-36 $\alpha$ による炎症活性化経路としてNLRP3インフラマソームや樹状細胞の誘導が知られているが、新たに持続的なリン排泄負荷によるIL-36 $\alpha$ の発現誘導の増強が腎臓でのこの活性化経路に関連する可能性を見出した。

IL-36 $\alpha$ の受容体欠損マウスで虚血再灌流や片側尿管結紮処置を行うと腎障害が軽減されることが示されており、IL-36 $\alpha$ は腎臓の病態形成に重要な役割を担っていると考えられる。今後、本研究において見出した腎臓でのリン排泄量亢進によるIL-36 $\alpha$ の上昇がCKDなど腎疾患の発症・進展に関連する可能性については、IL-36 $\alpha$ 受容体欠損マウスなどを用いたさらなる検証が必要になると考える。