

概日時計機構を基盤にした慢性腎臓病時における心臓病態悪化機構に関する研究

吉田, 優哉

<https://hdl.handle.net/2324/4475060>

出版情報 : Kyushu University, 2020, 博士 (臨床薬学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

氏名	吉田 優哉
論文名	概日時計機構を基盤にした慢性腎臓病時における心臓病態悪化機構に関する研究
論文調査委員	主 査 九州大学大学院 薬学府 教授 大戸 茂弘 副 査 九州大学大学院 薬学府 教授 小柳 悟 副 査 九州大学大学院 薬学府 准教授 島添 隆雄 副 査 九州大学大学院 薬学府 准教授 松永 直哉

論文審査の結果の要旨

慢性腎臓病 (chronic kidney disease; CKD)による腎機能の低下は様々な合併症を引き起こすが、特に心不全などの炎症を伴う心血管障害は生命予後に影響を及ぼす要因として最重要視されている。しかしながら、これら障害の発症および増悪メカニズムは十分な解明に至っておらず、有効な治療戦略は確立されていない。一方、当研究室では CKD モデルマウスの腎臓における炎症増悪因子として CLOCK 遺伝子を見出しており、CLOCK 遺伝子の変異が腎臓の炎症を抑制することを明らかにしている。しかしながら、CLOCK 遺伝子が CKD 時の心血管障害におよぼす影響は未だ明らかにされていない。そこで本研究では、CLOCK 遺伝子に着目し、CKD による心臓病態悪化メカニズムの解析を試みた。

まず、野生型および CLOCK 遺伝子変異 (*Cik/Cik*)マウスを用いて 5/6 腎臓摘出 (5/6 Nephrectomy; 5/6Nx)マウスを作成し、心臓の病態を観察した。その結果、高血圧やアンジオテンシン II 値は *Cik/Cik* 5/6Nx マウスと野生型 5/6Nx マウスとで差が認められなかったにもかかわらず、*Cik/Cik* 5/6Nx マウスのみ、心線維化やナトリウム利尿ペプチド (BNP)値の上昇などの所見が抑制されていた。そこで野生型 5/6Nx マウスの心臓において CLOCK 依存的に発現制御される遺伝子を、マイクロアレイ法等を用いて探索した。その結果、G-protein coupled receptor 68 (GPR68)を同定し、この受容体のノックダウンが 5/6Nx マウス心臓の線維化を抑制することを明らかにした。また、GPR68 が 5/6Nx マウス心室中の単球由来マクロファージの炎症性サイトカイン産生に関与していることを 5/6Nx マウスおよび初代培養単球を用いた検討で明らかにした。さらに、GPR68 高発現単球が脾臓に貯蔵されていたことから、5/6Nx マウスを対象にした脾臓の摘出実験、並びに脾臓摘出 5/6Nx マウスに対する単球移植を行った際の心臓病態を観察し、GPR68 高発現単球の心臓への浸潤が 5/6Nx マウスの炎症や線維化の悪化に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

続いて、5/6Nx マウスの単球における GPR68 発現誘導メカニズムを解析し、心臓病態の悪化をもたらす血中分子の探索を行った。まず、*Gpr68* 遺伝子上流に結合する転写因子を解析した結果、単球中の *Gpr68* 発現は CLOCK/ARNTL に制御されることが示唆された。そこで単球特異的 *Arntl* 欠損マウスを用いて検討を行った結果、単球 *Arntl* 欠損 5/6Nx マウスでは単球・マクロ

フェージ中の GPR68 発現増加は認められず、心臓の病態悪化も抑制された。さらに GPR68 の発現誘導をもたらす血中因子を探索した結果、5/6Nx マウスの血中に蓄積するレチノール/RBP4 複合体が単球中 CLOCK/ARNTL の発現変容を介して *Gpr68* の転写を促進することが示唆された。そこで、5/6Nx マウスに対するビタミン A 制限摂食を行った結果、摂取制限は血中レチノール/RBP4 の蓄積を抑制し、心臓中の GPR68 高発現単球を減少させた。以上の結果より、5/6Nx マウスで認められる単球 GPR68 の発現誘導は、血中のレチノール/RBP4 複合体による CLOCK/ARNTL の発現上昇を介して生じていることが明らかになった。

ヒト CKD 患者においてもレチノールの蓄積や心臓への単球浸潤が認められることが複数論文にて示唆されていることから、ヒト単球や CKD 患者血清を対象とした解析も行った。まず、ヒト単球細胞株 THP-1 およびヒト初代培養単球を用いて GPR68 発現制御メカニズムの解析を行った。その結果、GPR68 発現は概日時計機構によって制御されており、さらにマウス単球と同様に、レチノール/RBP4 が CLOCK/ARNTL によるトランス活性化を介して GPR68 発現を誘導することが明らかになった。そこで非糖尿病性 CKD 患者の血清検体を解析した結果、CKD 患者血清ではレチノール/RBP4 が蓄積しており、患者血清を曝露したヒト単球は高い GPR68、CLOCK、ARNTL および炎症性サイトカイン発現を示すことが明らかになった。さらに、患者検体の心不全マーカーBNP 値を測定した結果、GPR68 発現やレチノール濃度と正の相関を示した。以上の結果より、レチノールによって発現誘導される単球の GPR68 が CKD 患者における心臓の病態にも関与している可能性が示された。

以前より、概日時計機構の異常、単球遊走、レチノール/RBP4 蓄積などの現象が CKD の病態や合併症と関連することが示唆されていたが、これらの要因を具体的に解析した報告はなかった。本研究は、上記現象が CKD 誘発性心不全に深く関与することを示し、GPR68 高発現単球を介した一連のメカニズムを体系化した。本研究で示された結果は、単球、STRA6、CLOCK、GPR68 といった既存の心疾患の治療法とは全く異なる標的因子を提示しており、新たな治療薬の開発に発展する可能性がある。また、レチノールおよび RBP4 は現在最も普及している人工透析法では除去が困難な分子であり、これらを効率的に除去するには血液濾過透析法が有効であると考えられる。よって本研究は、血液濾過透析をはじめとする、血液透析より高品質な血液浄化法の普及や発展にも貢献すると考えられる。これらのことから、申請者は博士（臨床薬学）の学位に値すると認める。