

氏 名	田畑 智丈
(ふりがな)	(たばた ともたけ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第 1129 号
学位審査年月日	令和2年1月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Interleukin-24 is a novel diagnostic biomarker for the severity of acute kidney injury. (インターロイキン-24 は急性腎障害における新たな重症度診断マーカーである)
論文審査委員	(主) 教授 芦田 明 教授 森 龍彦 教授 石坂 信和

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《緒 論》

急性腎障害は急速に腎機能が低下する病態であり、その死亡率は 50%近くにも達する。このことから、急性腎障害の発症を予測し早期治療介入を可能とする鋭利なバイオマーカーの確立が急務となっている。また、急性腎障害を生じる原因は様々であるが、その解除により可逆的に回復する。しかし症例によっては急性腎障害から不可逆な病態である腎萎縮を伴う慢性腎臓病へ至ることが報告されている。その機序については未だ不明な点が多い。そのため、急性腎障害における生命予後あるいは腎予後を見極める予後・重症度予測を可能とするバイオマーカーの開発が期待される。

《目 的》

我々は急性腎障害から慢性腎臓病へ至る機序の解明を最終目的として、急性腎障害の早期診断および予後・重症度予測ができるバイオマーカーを探索した。

《方 法》

急性腎障害モデルマウスは腎動静脈のクリッピングによる虚血再還流によって作製した。その虚血時間の違いにより、急性腎障害を発症後に回復する群（腎回復群）と発症後2週間後に尿細管脱落を生じて萎縮する群（腎萎縮群）を作製し、両群における遺伝子発現をcDNA マイクロアレイ法により比較した。その結果、見いだされたインターロイキン-24 (IL-24) について、mRNA の発現推移および発現細胞の同定、血清および尿中 IL-24 の測定、IL-24 受容体の発現および発現細胞の同定、および *in vitro* における IL-24 の発現誘導を行なった。

《結 果》

cDNA マイクロアレイ法による解析の結果、腎萎縮群でのみ IL-24 が高発現していることを見いだした。腎臓における IL-24 の発現と虚血時間との関係を RT-PCR 法により解析したところ、虚血時間に伴って発現が上昇することを確認した。さらに、腎臓における IL-24 の発現は虚血後 18 時間から上昇し、3 日目および 14 日目の 2 回ピークをもつことを確認した。

IL-24 は血清中および尿中において ELISA 法により検出でき、血清クレアチニンの上昇（虚血再還流後 6 時間）よりも早い段階（虚血再還流後 2 時間）から上昇すること、既存のバイオマーカーである尿中 NGAL と同程度の時期に上昇することを確認した。また、虚血時間に伴って、血清中および尿中 IL-24 は上昇することを観察した。

免疫組織化学染色により、IL-24 の血管平滑筋細胞での発現、および IL-24 受容体である IL-22R1 の尿細管上皮細胞での発現を同定した。

IL-24 発現の誘導機構を明らかにするために、低酸素環境において血管平滑筋細胞の初代培養を行なった。その結果、低酸素培養下での血管平滑筋での IL-24 の発現は上昇した。

さらに、尿細管上皮細胞との共培養により、その発現量は増加した。

《考 察》

急性腎障害のバイオマーカーは、急性腎障害の症候前診断、重症度の評価、および慢性腎臓病への進行予測をできるだけ早く可能とするものである必要がある。IL-24 mRNA の発現は虚血期間とともに増加したが、腎回復群でも増加するため、IL-24 は慢性腎臓病予測マーカーとしては適していない。しかしながら、血清中 IL-24 レベルの上昇は、血清クレアチニンの上昇よりも早く検出され、虚血期間と相関があった。また、尿中 IL-24 は虚血再還流 2 時間後に検出され、既存のバイオマーカーである NGAL と同程度に敏感であった。したがって、IL-24 は急性腎障害の早期診断および重症度診断マーカーであることが示唆された。今後、急性腎障害の患者の血清中および尿中 IL-24 を検査することにより、新規のバイオマーカーとしての有用性を確認することが期待される。

また、急性腎障害の尿細管上皮細胞と血管平滑筋細胞の間で IL-24 を介したシグナルネットワークが存在することを示唆した。急性腎障害における血管平滑筋細胞の報告はほとんどなく、急性腎障害における IL-24 を介した血管平滑筋細胞の新たな役割を提唱することとなった。IL-24 はアポトーシス誘導、抗炎症作用をもつことが報告されている。同じ IL-10 遺伝子ファミリーのメンバーである IL-22 は、急性腎障害における尿細管上皮細胞の細胞死を保護することも報告されている。IL-24 も同様に急性腎障害での尿細管上皮細胞の細胞死あるいは生存の重要な決定因子であることが予想される。IL-24 ノックアウトマウスや IL-24 投与実験等により、急性腎障害における IL-24 の機能解析が期待される。

《結 論》

IL-24 は新たな急性腎障害の早期診断および重症度診断マーカーであること、および、IL-24 を介した尿細管上皮細胞と血管平滑筋細胞の間でのシグナルネットワークが存在する可能性を示した。以上から、本研究により急性腎障害の新たなバイオマーカーの提案を行うことができた。

論文審査結果の要旨

急性腎障害は急速に腎機能が低下する病態であり、その発症を予測し早期治療介入を可能とする鋭利なバイオマーカーの確立が急務となっている。また、急性腎障害後に慢性腎臓病に移行することも報告され、その機序解明が期待されている。

本研究は腎動静脈のクリッピングによる虚血再還流法を用いて急性腎障害後に回復するマウスと腎萎縮するマウスを作製し、腎萎縮群にのみ高発現する IL-24 を cDNA マイクロアレイ法により同定した。IL-24 の急性腎障害および慢性腎臓病への関与の報告は本研究が初めてである。

IL-24 は障害の程度により発現が増加し、血清および尿中においても観察可能であることを報告している。血清中における IL-24 は急性腎障害の指標とされる血清クレアチニンより早く上昇し、尿中における IL-24 は既存のバイオマーカーである NGAL と同じ早い段階で上昇することを確認している。以上のことは、IL-24 が急性腎障害における早期診断および重症度診断マーカーの新規候補因子であることを示唆している。今後、ヒトの急性腎障害における観察を行い、新規な急性腎障害の診断バイオマーカーになることが期待される。

さらに、IL-24 は障害腎の血管平滑筋細胞で発現し、その発現は尿細管上皮細胞からの液性因子により誘導されることを発見した。また、IL-24 の受容体である IL-22R1 が尿細管上皮細胞で発現することを同定した。これらのことから、IL-24 は急性腎障害時に尿細管上皮細胞と血管平滑筋細胞をつなぐメディエーターであることが示唆された。急性腎障害における血管平滑筋の機能はほとんど報告がなく、急性腎障害発生・進展の機序に新たな局面を提案している。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Medical Molecular Morphology, 2019 Dec 4

doi: 10.1007/s00795-019-00239-0.