



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the epithelial injury-related molecules inducing the urinary system disorders in animals [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	難波, 貴志
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15512号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89933
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takashi_Namba_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：難波 貴志

Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

Studies on the epithelial injury-related molecules
inducing the urinary system disorders in animals
(動物の泌尿器異常を導く上皮障害関連分子の研究)

慢性腎臓病（CKD）はヒトの主要な泌尿器疾患であり、イヌやネコにおいてもその症例数が増加している。腎臓の病態はその要因から腎前性、腎性、腎後性に区分され、高血圧や虚血、免疫異常、尿路障害等が各病態を導く。腎臓から尿道に至る尿路では、各管状臓器構造を内張する上皮が尿とその実質組織を画し、尿-上皮バリア（UEB）を形成する。これまでの研究において、泌尿器の病態形成機序の一つとして、UEBの崩壊とそれに付随する上皮病態関連分子の発現異常が報告されている。その中でも、IL-36 α および 17 型コラーゲン A1（COL17A1）の発現は、それぞれ障害された腎上皮細胞および尿路上皮細胞で増加する。これら泌尿器に発現する上皮病態関連分子は、治療標的や尿中の病態診断マーカーの候補として重要である。そこで本研究では、疾患モデルマウスと臨床検体を用いて、両分子を介した腎臓および尿路の病態形成機構について精査し、泌尿器疾患領域における獣医療および医療の発展に貢献することを目的とした。

第一章では、腎上皮細胞障害関連分子として IL-36 受容体（IL-36R）およびそのリガンド群（IL-36 群）に着目した。IL-36 群は IL-1 ファミリーに属し、3 つの作動分子（IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ ）と 2 つの拮抗分子（IL-36Ra、IL-38）から成る。自己免疫性腎炎モデルマウス MRL/MpJ-*Fas^{lpr/lpr}*（MRL/lpr）を用いた解析によって、IL-36 群はその腎臓内発現様式から、恒常型と誘導型に区別された。IL-36Ra は平滑筋、IL-36 γ は交感神経において恒常的に発現していた一方、腎炎の進行に伴い、IL-36 α の発現は障害された遠位尿細管上皮細胞や CD44⁺ 活性化型の糸球体包外壁の上皮細胞に誘導された。さらに腎炎マウスでは、IL-36Ra は腎上皮細胞で、IL-36 β と IL-38 は形質細胞で発現した。本分子群において、特に IL-36 α および IL-38 の腎臓内発現定量値が腎炎スコアと正に相関した。また、IL-36R は腎臓内で遍在性に局在する一方、腎炎進行に伴い障害された腎上皮細胞で発現誘導され、その下流にあたる NF- κ B や MAPK 経路関連分子群の腎臓内遺伝子発現が増加した。加えて、ネコ腎組織を用いた解析において、IL-36R の mRNA が遠位尿細管や糸球体包外壁の上皮細胞に検出され、これはマウス IL-36 α および IL-36R の局在と一致していたため、IL-36R シグナルを介した腎病態形成機構は動物種に共通する可能性が示唆された。

第二章では、IL-36R シグナルを介した腎病態形成機構のさらなる解析のため、IL-36R を欠損した MRL/lpr マウス（IL-36R-KO）を用いて、その腎表現型を野生型マウスと比較した。両群間において、自己免疫異常や腎機能指標、IL-36 群の腎内発現量は同等だった。一方、腎病理解析において、雌雄 IL-36R-KO の糸球体病理の重篤度および雌の尿細管間質の線維化は、野生型と比べ軽度

だった。また IL-36R の有無に関わらず、IL-36 α は腎上皮細胞の細胞質と核に局在し、その一部はアセチル化リジンやヒストンアセチル化酵素 GCN5 と共局在を示した。これにより、IL-36R を介さない核内 IL-36 α シグナルの存在が示唆された。以上、腎臓に発現する IL-36 群は、その脈管神経系で機能する恒常発現型と、障害を受けた腎上皮細胞や浸潤細胞に発現する誘導型に大別され、その局在から前者は腎恒常性の調節に、後者は炎症性病態の形成に関与すると考えられた。特に、腎臓における IL-36 α の過剰発現は、IL-36R 依存のおよび非依存の経路を介して、糸球体および尿細管における UEB 崩壊に寄与すると考えられた。

第三章では、尿路上皮細胞障害関連分子として COL17A1 に着目した。COL17A1 は表皮のヘミデスモソーム構成分子として生理的な機能を担う。一方、本研究では、COL17A1 が閉塞性尿路疾患を呈したヒトやネコの尿管尿路上皮細胞で異所性に発現することを見出した。閉塞性尿路疾患モデルマウスにおいても、腎盤および尿管の尿路上皮細胞で COL17A1 発現が検出された。さらに、尿路上皮細胞関連分子群との共局在解析により、COL17A1 は尿路上皮細胞の細胞接着、分化や増殖に関与することが明らかとなり、COL17A1 発現の定量値は尿細管間質の病理指標と正に相関した。本モデルマウスの腎盤を組織学的に精査したところ、特に尿管から連続する平滑筋層が消失する部位において、尿路上皮細胞の脱落と COL17A1 の発現誘導が顕著だった。さらに、UEB 崩壊によってその下層の腎盤実質に尿が浸潤した。また、免疫細胞培養系を尿で刺激すると、ケモカイン群、特に *Cxcl2* 遺伝子の発現が増加し、COL17A1 で刺激した CD11b⁺細胞においてもその発現は上昇した。また、UEB 崩壊部位では CXCL2⁺CD11b⁺細胞が観察された一方、*Col17a1*-KO マウスではその浸潤が軽度だった。以上、尿路閉塞病態において、COL17A1 は尿路上皮細胞の増殖等の病態応答に関与する一方、炎症細胞の局所誘導にも寄与すると考えられた。

結論として、各泌尿器疾患モデルマウスを用いた解析により、本研究は 1) 腎炎の進行に伴い障害された腎上皮細胞では、IL-36 α 優位な発現変化が糸球体および尿細管間質病変の形成に関与すること、2) 閉塞性尿路疾患において、COL17A1 が尿路上皮細胞で異所性に発現し、尿路上皮の再構築と局所の炎症に関与することを示した。これら泌尿器における上皮障害関連分子は UEB 崩壊を導く一方、新たな治療標的および尿中診断マーカーになり得る。近年、ヒトを含む複数の生物種に共通する疾患に着目し、生物種横断的にその病態解明や治療法・診断法を考察する学問は“汎動物学”と称される。マウス、ネコ、ヒトにおける IL-36R と COL17A1 の泌尿器内発現動態には共通性がみられるため、これらの結果を汎動物学的視点から考察することは、獣医療さらにはヒト医療への応用に向けて意義深い。以上、本研究は動物ならびにヒトの泌尿器疾患に対する診断および治療戦略の発展に向けて、新たな知見を提供した。