

新生児の腎臓におけるエリスロポエチン産生細胞成熟および血管新生制御機構の解明

浅田礼光

国立成育医療研究センター 分子内分泌研究部

【研究の背景】

日本では出生数の約 1 割が早産低出生体重児である。早産低出生体重児では血管新生障害による疾患（未熟児網膜症や腎血管密度低下による思春期多血症）や造血に必須のホルモンであるエリスロポエチン（EPO）の欠乏による未熟児貧血を発症するが、その詳細な機序は不明であった。

【目 的】

早産児における副腎機能の成熟および治療目的の副腎皮質ステロイド投与が、腎臓の血管新生および EPO 産生細胞成熟を制御する事を示す。

【方 法】

未熟児貧血モデルマウスに対し、薬理量の副腎皮質ホルモンを投与し、EPO 産生細胞の成熟度および腎臓の毛細血管成熟を評価する。また、副腎皮質ホルモンが未熟腎の発達に与える影響を遺伝子レベルで解析するために、未熟児貧血モデルマウスに対し副腎皮質ホルモンを投与し microarray による mRNA 発現変化を解析する。

【結 果】

1. 糖質コルチコイドは EPO 産生細胞の成熟を促進させるが毛細血管密度の減少を起こす

糖質コルチコイドが EPO 産生細胞に与える影響を調べるために、ネフロン新生の続く生後 3 日目のマウス新生仔にプレドニン 1 mg/kg を投与し、生後 1 週目、生後 2 週目、生後 8 週目に評価した。各時期の EPO 発現量を realtime PCR で調べたところ、生理的に貧血を起こす生後 1 週目において EPO 発現量がコントロール群に比べ有意に増加していた。EPO 産性能が成熟する生後 2 週目、成熟マウスである生後 8 週目では EPO 発現量に有意な差は存在しなかった。しかし、生後 1 週目には有意な差を認めなかったヘモグロビン値が生後 2 週目ではプレドニン投与群で有意に増加しており、EPO 産性能上昇による貧血改善と考えられた。生後 8 週目ではヘモグロビン値に有意な差を認めなかった。生後 1 週目の腎臓で、EPO 産生細胞の未熟性マーカーである alpha-smooth muscle actin (aSMA) 染色を実施したところ、コントロール群に比べ、プレドニン投与群では有意な aSMA 発現の減少が認められた。以上から、生後のプレドニン投与は EPO 産生細胞の成熟を促し EPO 産生量を増加させると考えられ、副腎皮質ホルモンには未熟児貧血を予防する効果があると期待された。

次に、糖質コルチコイドが毛細血管発達に与える影響を調べた。ネフロン新生の続く生後 3 日目のマウス新生仔にプレドニン 1 mg/kg を投与し、生後 1 週目、生後 2 週目、生後 8 週目に評価した。各時期の毛細血管密度を血管内皮細胞マーカー CD31 に対する免疫染色で評価したところ、生後 1 週および生後 2 週の時点でプレドニン投与群で毛細血管密度が有意に低下していた。生後 8 週では毛細血管密度低下の傾向を認めたものの、差は有意ではなかった。

2. 糖質コルチコイドは血管内皮増殖因子受容体 II 型の発現を低下させる

糖質コルチコイドが遺伝子発現に及ぼす変化を調べるために、生後 3 日目のマウス新生仔にプレドニン 1 mg/kg を投与

し、生後 1 週目の腎臓で microarray を実施した。control 群に比べ、プレドニン投与群では有意な血管内皮増殖因子受容体 II 型の発現低下を認めた。血管内皮増殖因子受容体 II 型は血管内皮細胞の増殖を誘導し血管新生に重要な受容体であるため、この受容体の発現量低下を介して血管新生を抑制している可能性があると考えられた。一方、EPO 産生に関わる遺伝子発現に有意な変化は認められなかった。

【考 察】

本研究では、副腎皮質ホルモンが EPO 産生細胞の成熟を促進する事で貧血を改善させる効果がある一方で、腎臓の血管新生に対しては抑制的に働くことが示唆された。早産児では副腎機能が低く、しばしば相対的副腎不全による晚期循環不全などの様々な病態を引き起こす。一方、早産児では EPO 産性能低下による未熟児貧血を起こすことが知られていた。これまで、この二つの病態に関連性は知られていなかったが、本研究結果は副腎機能の未熟性のために EPO 産生細胞の成熟が遅れ未熟児貧血の発症に至る事を示唆している。より詳細な解析には副腎機能が低下する遺伝子改変マウスを使用した研究が有用であると考えており、現在準備中である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

副腎皮質ホルモンは早産児治療のために頻繁に使用される薬剤である。これまでに報告されている同薬剤の副作用は神経学的なものが中心であった。しかし、本研究では副腎皮質ホルモンが未熟児貧血に対しては改善効果が期待できるものの、腎臓の血管新生を阻害することが示唆された。この血管新生阻害の効果が腎臓に特異的な現象かどうかは今後の研究課題であるが、副腎皮質ホルモンの過剰な使用は血管新生障害による臓器発達異常につながる可能性がある。本研究は副腎皮質ホルモンが早産児に及ぼす影響を調べた数少ない研究であり、新生児医療における副腎皮質ホルモンの影響解明に役立つと言える。

【参考・引用文献】

Asada N. Tubular immaturity causes erythropoietin-deficiency anemia of prematurity in preterm neonates. *Sci Rep.* 8(1):4448, 2018

Asada N, Tsukahara T, Furuhata M, Matsuoka D, Noda S, Naganuma K, Hashiguchi A, Awazu M. Polycythemia, capillary rarefaction, and focal glomerulosclerosis in two adolescents born extremely low birth weight and premature. *Pediatr Nephrol.* 32(7):1275-1278, 2017

Asada N, Takase M, Nakamura J, Oguchi A, Asada M, Suzuki N, Yamamura K, Nagaoshi N, Shibata S, Tata Nageswara Rao, Hans Joerg Fehling, Fukatsu A, Minegishi N, Kita T, Kimura T, Okano H, Yamamoto M, and Yanagita M. Dysfunction of fibroblasts of extra-renal origin underlies renal fibrosis and renal anemia in mice. *J Clin Invest.* 121(10):3981-3990, 2011