

炎症性腎疾患において腎神経が果たす役割の解明

田中真司

東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科

【研究の背景】

急性腎障害は急激な腎機能低下を特徴とする症候群で、多種多様な臨床場面において生じ得る臓器障害であり、炎症が病態形成・進展に重要な役割を果たしている。入院患者の約 10%、ICU 患者の約半数が合併するとされる急性腎障害が、あらゆる症例の予後を悪化させることは数多くの疫学研究で報告されている。さらに急性腎障害を発症するとその後慢性腎臓病さらには末期腎不全に進展し得ることも大きな問題である。しかし急性腎障害に対する特異的な治療法はいまだ存在しない。また急性腎盂腎炎は、大腸菌などの病原菌が膀胱→尿管を介して腎実質に侵入して生じる重症感染症であり、高熱や悪心・嘔吐など強い全身症状を認めることが多く、特に敗血症に進展すると有効な抗生物質投与下でも致死率が高い。急性腎障害および急性腎盂腎炎の病態形成においては炎症が重要な役割を果たしており、これら炎症性腎疾患の新規治療戦略を開発することは喫緊の臨床課題である。

【目 的】

腎臓を支配する神経は、脳から腎臓に情報を伝える交感神経（遠心性）と腎臓から脳に情報を伝える感覚神経（求心性）の 2 種類からなる。腎神経の束の中では 2 種類の神経が混在していることが多いため、両者を物理的に分けて選択的に操作することは不可能である。申請者の報告¹⁾を含めた最近の報告では、感覚神経の刺激は炎症抑制・促進両方をもたらすことがわかってきた。本研究では、最新の技術を用いて腎感覚神経を選択的に操作し、炎症性腎疾患において腎感覚神経が果たす役割を解明することを目的とした。

【方 法】

(a) 腎感覚神経選択的除神経: 高濃度のカプサイシンを野生型マウスの腎神経に塗布し感覚神経のみを除神経する。この方法は、腎感覚神経の軸索にカプサイシン受容体である TRPV1 が発現しており、交感神経には発現していないことを利用したものである²⁾。

(b) 腎感覚神経選択的抑制・刺激: *Trpv1Cre* マウスの腎に、Cre 依存性の抑制性 (Gi) の DREADD を組み込んだ retrograde AAV を微小注射し、4-6 週後に CNO を腹腔内投与することで、腎感覚神経を選択的に抑制する。同様に興奮性 (Gq/Gs) の DREADD-AAV を用いることにより、腎感覚神経の選択的刺激も行う。

【結 果】

(a) 腎感覚神経選択的除神経: 図1に示すように、この手法を用いることにより腎感覚神経が選択的に除神経されることを確認できた。

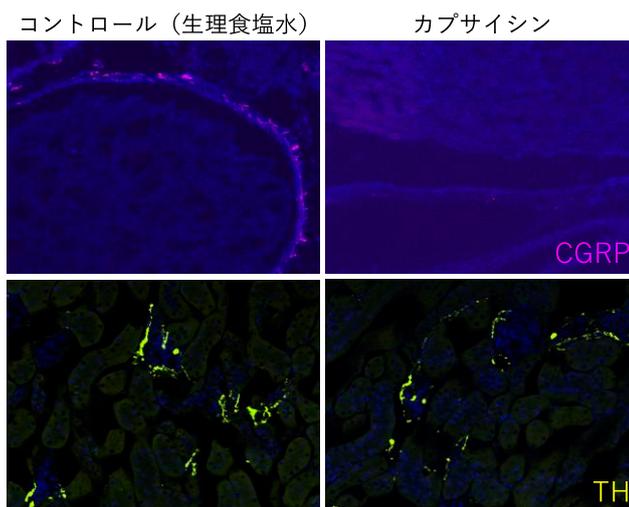


図1：カプサイシン塗布による腎感覚神経選択的除神経の確認
野生型マウスの腎神経にカプサイシンまたは生理食塩水を直接塗布し、7日後に免疫組織染色で感覚神経（CGRP陽性）および交感神経（TH陽性）を検出した。カプサイシン塗布により感覚神経のみが選択的に除神経されていることがわかる。

(b) 腎感覚神経選択的抑制・刺激: AAV 注射の前に、どのような微小注射プロトコルを用いれば効率的に腎感覚神経に到達できるかを検証するため、まずは逆行性トレーサーである CTB を腎に微小注射し、感覚神経の細胞体が存在する脊髄後根神経節 (DRG) で CTB を観察する方針とした。DRG の切片での観察では観察できる範囲が限られてしまい、信頼性の高い結果が得られないため、DRG を透明化しホルマウントで観察したいと考え、まず図2のように透明化 DRG のホルマウント観察の手法を確立した。

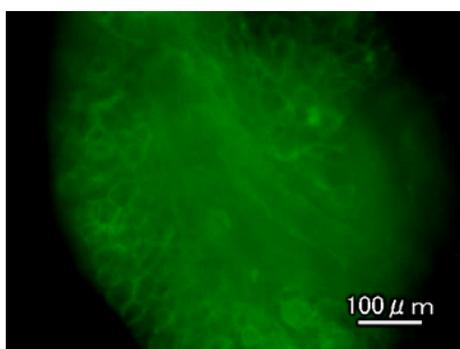


図2：透明化脊髄後根神経節 (DRG) のホルマウント観察
感覚神経レポーターマウス (*Trpv1Cre-EYFP*) のDRGを透明化し、ホルマウントでEYFP蛍光を直接観察した。LittermateのCre陰性のマウスでは緑色蛍光は観察されなかった。

次に腎への微小注射プロトコルを最適化するため、様々な微小注射プロトコルを検証し、プロトコルを確立した(図3)。

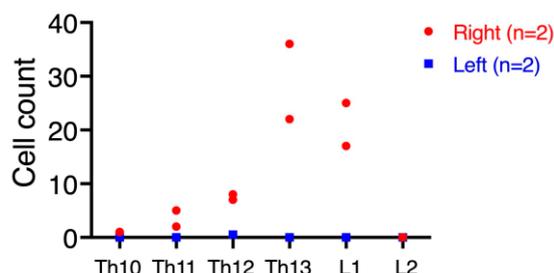


図3：腎臓感覚神経のlabeling
逆行性トレーサーであるCTBを野生型マウスの右腎のみに微小注射し、ホルマウントで脊髄後根神経節を観察した。

【考 察】

腎臓感覚神経の選択的除神経および labeling に成功した。今後は、CTB で確立したプロトコルを用い AAV を腎臓に微小注射し、腎臓感覚神経の選択的抑制・刺激を行う。そしてこれらの選択的操作の効果を、確立された炎症性腎疾患モデル(急性腎障害:両側腎虚血再灌流、シスプラチンまたは葉酸投与;急性腎盂腎炎:病原性大腸菌を経尿道的に膀胱内注入)で検証する。抗炎症効果は、急性腎障害を軽減させ、急性腎盂腎炎では逆に感染促進を介して増悪をもたらす可能性があると考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

腎感覚神経の下流の経路として、①腎感覚神経→中枢神経→(遠心路)→腎臓という神経回路の可能性、②腎感覚神経の興奮時に神経終末(腎に存在)から放出されるサブスタンスP/CGRPなどの神経伝達物質による炎症促進/抑制効果(肺・皮膚など他の組織で最近注目を集めている³⁾)の可能性、を考えている。特に②の仮説が正しい場合、神経伝達物質の選択的受容体拮抗薬/作動薬の臨床試験につながる可能性があり、臨床的な意義は大きいと期待される。

【参考・引用文献】

- 1 Tanaka S, Abe C, Abbott SBG, Zheng S, Yamaoka Y, Lipsey JE, Skrypnik NI, Yao J, Inoue T, Nash WT, Stornetta DS, Rosin DL, Stornetta RL, Guyenet PG, Okusa MD. Vagus nerve stimulation activates two distinct neuroimmune circuits converging in the spleen to protect mice from kidney injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Mar 23;118(12):e2021758118.
- 2 Foss JD, Wainford RD, Engeland WC, Fink GD, Osborn JW. A novel method of selective ablation of afferent renal nerves by periaxonal application of capsaicin. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2015 Jan 15;308(2):R112-22.
- 3 Udit S, Blake K, Chiu IM. Somatosensory and autonomic neuronal regulation of the immune response. *Nat Rev Neurosci*. 2022 Mar;23(3):157-171.