

腹膜の炎症・線維化における MMP-10 の役割を解明

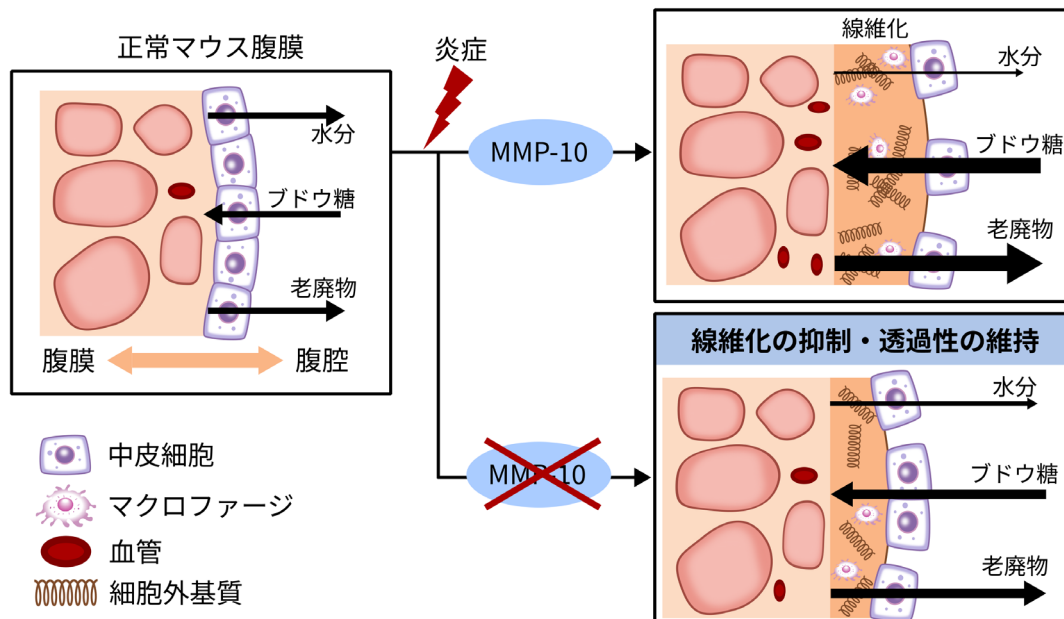
—腹膜透析の長期施行にむけた新たな治療ターゲットに—

概要

進行した腎不全患者では、腎臓からの老廃物や余剰な水分の排泄が滞ることで様々な症状が引き起こされます。その治療として自らの腎臓の機能を補う腎代替療法が必要となり、その治療法の一つである腹膜透析は拘束時間が短いことや緩徐な除水が行われることから患者 Quality of Life に優れているとされています。しかし、腹膜透析には長期の施行により腹膜機能が劣化し、他の腎代替療法が必要になるという弱点がありました。

京都大学大学院医学研究科腎臓内科学 横井秀基 講師、柳田素子 同教授、石村拓也 同研究生らの研究グループは MMP-10 (マトリックスメタロプロテアーゼ 10) という物質に着目し、MMP-10 遺伝子が欠損しているマウスにおいて、腹膜の肥厚や線維化が軽減していることを明らかにしました。MMP-10 は悪性腫瘍や傷の修復に関与していることが知られていましたが、本研究は初めて腹膜障害における MMP-10 の役割を明らかにしました。また、MMP-10 は転写因子 NF- κ B を介して腹膜の炎症を引き起こすことも明らかにしました。さらに、腹膜透析を受けている患者さんの血中 MMP-10 濃度が腹膜障害の程度と相関していることも明らかとし、今後長期的な腹膜透析の継続にむけて重要な治療ターゲットになることが期待されます。

本研究成果は、2023年8月29日に、国際学術誌「*Kidney International*」にオンライン掲載されました。



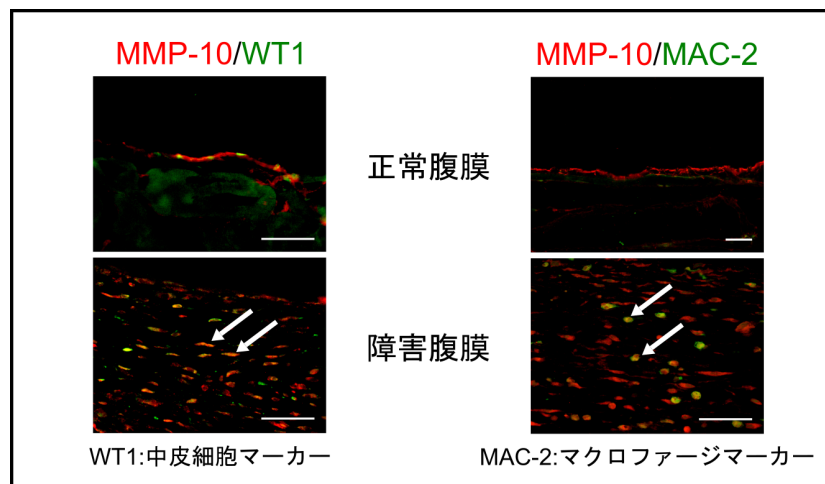
傷害された腹膜では中皮下の線維化や炎症細胞・微小血管の増加、中皮細胞の脱落が見られ、老廃物とグルコースの透過性亢進が引き起こされる結果腹膜透析液中への水分排泄が抑制される。MMP-10 を欠損したマウスではそれらの変化が抑制されていた。

1. 背景

腹膜は腹腔臓器を覆っている膜状の組織であり、腹部臓器の動きを滑らかにし保護する働きがあります。本来、腹膜は非常に薄く、単層の中皮細胞層とその下の間質層から構成されています。腹膜は一定の大きさ以下の分子またはイオンのみを透過させる半透膜という性質があり、その働きを利用して体の老廃物を拡散で、腹膜透析液中のグルコースの浸透圧を利用して水分を排出する治療が腹膜透析です。自分の腎機能が低下し、老廃物や水分を十分に排泄できない患者さんに対して行われる治療ですが、長期間腹膜透析を行うと次第に腹膜の肥厚・機能低下を引き起こし、除水効率が悪くなってしまう欠点がありました。今まで本研究グループは腹膜機能低下の原因となる因子を研究してきており、Pleiotrophin や CTGF などのタンパク質を原因因子として報告してきました。

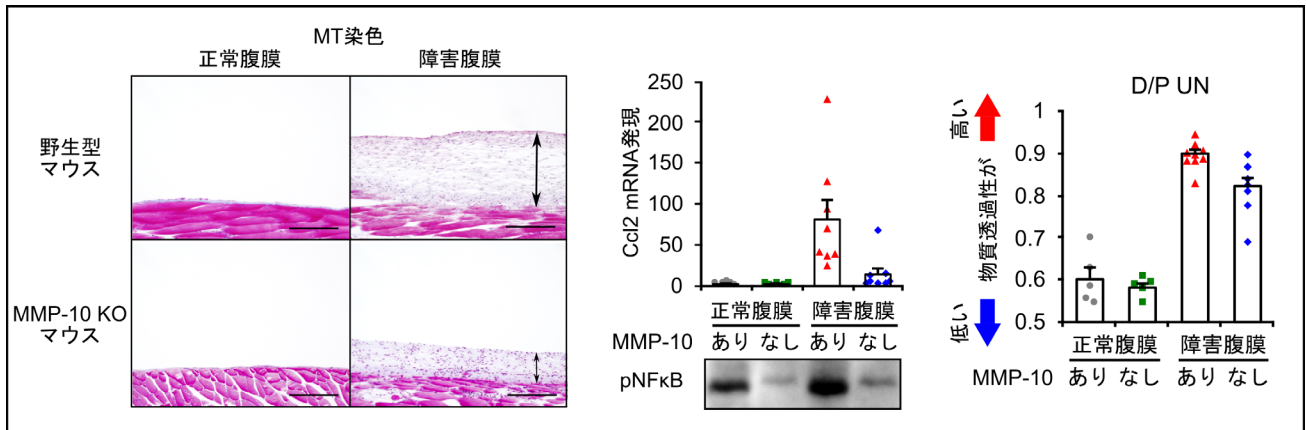
2. 研究手法・成果

傷害されたマウス腹膜において上昇している遺伝子を、マイクロアレイ解析を用いて網羅的に検索しました。その中でも特に MMP (マトリックスメタロプロテアーゼ) ファミリーに着目し、上昇率の高い MMP の中から MMP-10 という物質について、その働きを調べることにしました。まず傷害された腹膜では MMP-10 の発現が亢進していること、とくに中皮細胞やマクロファージに存在していることを明らかにしました。



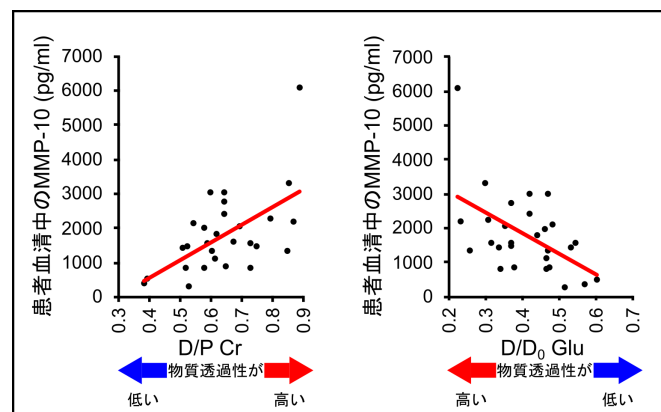
【図1】MMP-10 は中皮細胞マーカーである WT1 やマクロファージマーカーである MAC-2 と同じ細胞に発現していることを明らかにした(矢印)。なお、正常腹膜ではマクロファージはほとんど認められない。

そこで MMP-10 遺伝子が欠損しているマウス (MMP-10 KO マウス) の腹膜に同様の障害を起こしてみると、野生型マウスに比べて明らかに腹膜の肥厚が抑制されていました。また、腹膜の物質透過性を調べる腹膜平衡機能検査では、野生型マウスでは物質透過性が亢進していましたが MMP-10 KO マウスで有意に物質透過性が維持されていました。さらに炎症や線維化に関連する遺伝子発現が MMP-10 KO マウスでは抑制されており、その機序には転写因子 NF- κ B が関わっていることを明らかにしました。



【図2】MMP-10 ノックアウトマウス (MMP-10 KO マウス) では腹膜肥厚が軽減している (図左)。また Ccl2 を始めとする炎症性に関連する mRNA や炎症反応の中心的役割を担う転写因子 NFκB のリン酸化も、MMP-10 KO マウスで抑制されていた (図中)。さらに物質透過性の指標である D/P UN も MMP-10 KO マウスで維持されていた (図右)。

ヒトにおける MMP-10 の意義を検討するために腹膜透析患者さんの血清中 MMP-10 濃度を調べると、腹膜の障害が進む (腹膜の物質透過性が上昇する) ほど MMP-10 濃度が上昇しており、ヒト腹膜でも MMP-10 が腹膜機能低下に重要な働きを呈している可能性が示唆されました。



【図3】腹膜透析患者の血清中の MMP-10 濃度と腹膜透過性の相関図。透過性が高いほど MMP-10 濃度が上昇している

3. 波及効果、今後の予定

腹膜透析における腹膜機能低下は、未だ有効な治療法が確立していない病態です。今後、MMP-10 を始め新たな治療ターゲットが発見されることが期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

関連研究機関は京都大学、関西電力病院、神戸市立医療センター中央市民病院、国立病院機構京都医療センター、田附興風会医学研究所北野病院です。

本研究は科研費 20K08633, 23K07717 (横井秀基)、21K16188, 23K15227 (山田博之)、22K08310 (石井輝)、21K16189 (大野祥子)、20K17246, 23K15227 (加藤有希子)、日本医療研究開発機構 (AMED) JP21gm121009,

JP21zf0127003 (柳田素子)、持田記念医学薬学振興財団研究助成 (山田博之)、喫煙科学研究財団研究助成 (横井秀基、石井輝)、日本透析医会研究助成 (横井秀基)、日本腹膜透析学会論文化助成 (石村拓也) によって行われました。

<用語解説>

WT1: Wilms Tumor 1。ウィルムス腫瘍という腎臓に発生する小児がんで発見された遺伝子ですが、現在では表皮系の細胞に幅広く発現していることがわかっています。本研究では中皮細胞のマーカーとして利用しています。

MAC-2: Galectin-3 としても知られています。細胞接着や細胞走化性に関わっていることが知られていますが、本研究ではマクロファージのマーカーとして利用しています。

MT 染色: マッソン・トリクローム染色。核が紫黒色、細胞質が赤、膠原線維が青く染まる染色法です。

Ccl2: C-C motif chemokine ligand 2。ケモカインの一種であり、白血球などの遊走に関与している炎症関連遺伝子です。

pNFκB: phospho-nuclear factor-kappa B。活性化した NFκB を示しています。NFκB は複数のサブユニットからなっていますが、その中心的な役割を担うサブユニット p65 のリン酸化したものを検出しました。

腹膜平衡機能検査: 腹腔内に 4 時間腹膜透析液を貯留し、その排液の状態から腹膜の状態を推測する検査です。

D/P Cre, D/P UN, D/D₀ Glu の 3 つの指標がよく用いられ、それぞれ透析液中クレアチニン濃度/血中クレアチニン濃度、透析液中尿素窒素濃度/血中尿素窒素濃度、検査終了時透析液ブドウ糖濃度/検査開始時透析液ブドウ糖濃度を示します。

<研究者のコメント>

MMP はもともと細胞外基質を分解する働きが主に注目されていましたが、近年ではその他にも転写因子の調整やサイトカインの活性化など複数の働きがあることがわかっています。MMP-10 は病態や臓器によって働きが異なり、病態に良い作用も悪い作用も報告されています。今回腹膜における MMP-10 の役割について示すことができましたが、さらに詳細な分子学的機序を解明するために研究を進めていきたいと考えています。

<論文タイトルと著者>

タイトル: Matrix metalloproteinase-10 deficiency has protective effects against peritoneal inflammation and fibrosis via transcription factor NFκB pathway inhibition

(マトリックスメタロプロテアーゼ-10 の欠損は、転写因子 NFκB 経路阻害を介して腹膜炎および線維症に対する保護効果を呈する)

著者: Takuya Ishimura, Akira Ishii, Hiroyuki Yamada, Keisuke Osaki, Naohiro Toda, Keita P. Mori, Shoko Ohno, Yukiko Kato, Takaya Handa, Sayaka Sugioka, Akie Ikushima, Haruomi Nishio, Motoko Yanagita, Hideki Yokoi

掲載誌: *Kidney International* DOI: 10.1016/j.kint.2023.08.010