

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

日本大腸肛門病学会雑誌 (2007.08) 28巻8号:1497～1500.

The Renometabolic Syndrome  
糖尿病性腎症進展予防に対する治療戦略標的としてのInterleukin-18(IL-18)

滝山由美, 本庄 潤, 羽田勝計, 立野正敏

## ● 研究成果発表 演題1

# The Renometabolic Syndrome

—糖尿病性腎症進展予防に対する治療戦略標的としての  
Interleukin-18(IL-18)—

滝山由美<sup>1)</sup> 本庄 潤<sup>1)</sup> 羽田勝計<sup>1)</sup> 立野正敏<sup>2)</sup>

## はじめに

メタボリックシンドロームの病態の中心は内臓脂肪蓄積であり、脂肪細胞は能動的な内分泌臓器としてPAI-1, TNF- $\alpha$ , アディポネクチンなどのアディポサイトカインを分泌し、インスリン抵抗性の惹起・増悪に関与していると考えられている。一方、糖尿病性腎症の発症・進展に炎症性のプロセスが関与することが報告されている。

interleukin-18(IL-18)は、IFN- $\gamma$ を誘導するサイトカインとして肝臓のKupffer細胞から同定されたが、糖尿病性腎症患者においては血清および尿中IL-18濃度が上昇することが報告されており、糖尿病性腎症における重要性が示唆されている。また最近の研究では、正常アルブミン尿を呈する2型糖尿病患者において、血清IL-18値の上昇が将来的な腎機能障害の予測因子となることが報告されている。一方、最近、IL-18はアディポサイトカインの一つであることが明らかとなり、肥満やインスリン抵抗性に関与し、これらの病態における慢性炎症の免疫学的血中マーカーとして有用であることが報告されている。さらにIL-18はメタボリックシンドロームの病因に独立して関与していることも明らかとなっている。

今回われわれは、糖尿病性腎症におけるIL-18の役割について検討するため、ヒト腎生検組

織標本およびヒト腎臓培養細胞を用い、腎臓におけるIL-18発現とその制御について検討した。

## 対象および方法

ヒト腎組織におけるIL-18, IL-18受容体蛋白の発現について、パラフィン包埋の腎生検組織標本を用い、それぞれ抗ヒトモノクローナル抗体により免疫学的組織染色を施行した。対象は顕性腎症期の糖尿病性腎症13例で、微小変化群8例を対照群とした。

次にCambrex社より購入したヒト近位尿細管上皮細胞(HRPTEC)とヒトメサンギウム細胞(HMC)を用いて、IL-18の発現とその制御について検討した。mRNA発現についてはRT-PCR, 定量的real-time RT-PCR法で、IL-18蛋白発現については免疫沈降後ウエスタンブロッティングを施行した。

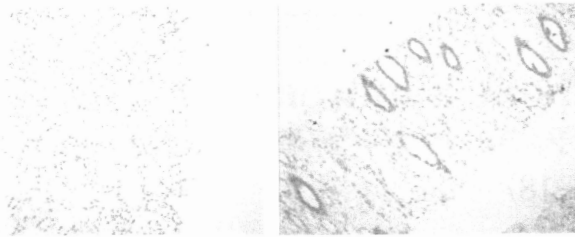
## 結 果

免疫組織学的所見ではIL-18は微小変化群ではほとんど発現が認められなかったが、糖尿病性腎症例では尿細管の細胞質に強度の発現が認められた。そこでこの発現部位について、近位尿細管に局在するCD15に対する抗体を用いて検討したところ、IL-18はCD15陽性また陰性を呈する尿細管に染色され、近位・遠位尿細管の細胞質に局在することが明らかとなった

<sup>1)</sup> 旭川医科大学内科学講座病態代謝内科学分野 <sup>2)</sup> 旭川医科大学病理学講座

微小変化群

糖尿病性腎症



(拡大率, ×100)

図1 糖尿病性腎症の尿細管細胞におけるIL-18発現とその局在

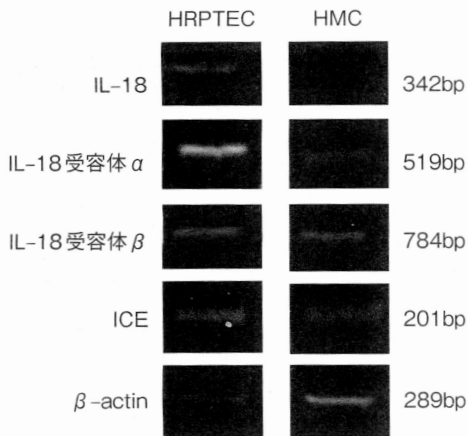


図2 各種培養細胞におけるIL-18およびIL-18受容体サブタイプの発現

(図1)。一方、IL-18受容体は微小変化群、糖尿病性腎症群ともに腎組織に陽性所見が認められ、尿細管細胞のほか糸球体のポーマン囊上皮細胞、内皮細胞、メサンギウム細胞に観察された。IL-18とIL-18受容体は、糖尿病性腎症では同じ尿細管細胞に共発現が認められた。それぞれの陽性率をみるとIL-18受容体は両群とも全例陽性で、IL-18は微小変化群8例中1例12.5%、糖尿病性腎症では13例中10例76.9%で陽性所見を認めた。また、各培養細胞での発現をみたところ、IL-18 mRNAはHRPTECでは恒常的に発現したが、HMCでは発現は検出されなかった。一方、IL-18受容体α鎖、β鎖の両サブユニットのmRNAと、24kDaのプロIL-18蛋白を18kDaのIL-18活性化蛋白とするIL-1β converting enzyme(ICE)のmRNAは、いずれの細胞でも発現が認められた(図2)。

次にHRPTECにおけるIL-18 mRNA発現制御に関して、糖尿病性腎症の重要な発症・進展因子として知られるTGF-βとアンジオテンシンII(AII)による刺激時の変動を検討した。その結果、図3に示すとおりTGF-β 2.5ng/mL刺激時には濃度依存性にIL-18 mRNAの有意な発現増強が認められたが、AII刺激によつては発現増強を認めなかった。さらにTGF-β刺激時のIL-18 mRNAの発現亢進はMAPキナーゼ(MAPK)系阻害薬の前処置によつて有意に抑制されたことから(図4)、MAPK pathwayの関与が示唆された。また、HRPTECにおけるIL-18蛋白発現について検討した結果、非刺激下、TGF-β刺激下、AII刺激下いずれの場合においても24kDaのIL-18前駆蛋白が確認されたが、活性型IL-18蛋白はわずかに検出するのみにとどまった。

#### まとめと考察

免疫学的組織学的検討により糖尿病性腎症の尿細管細胞におけるIL-18の高発現を確認した。HRPTECにおいてIL-18 mRNAは恒常的に発現し、蛋白レベルでもその発現を確認した。この発現はTGF-β刺激により亢進し、MAPK阻害薬前処置によつて抑制された。このことから2型糖尿病性腎症では尿細管細胞でTGF-βによつてIL-18発現が増強され、糖尿病性腎症の病態への関与が示唆された。今後、糖尿病性腎症におけるIL-18の作用を解明することによつて腎症の治療標的としての可能性について検討を進めたいと考えている。

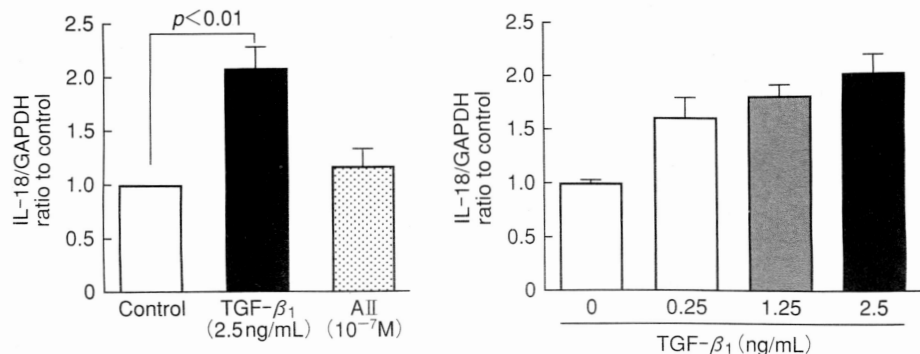


図3 IL-18 mRNA発現に及ぼすTGF- $\beta$ の影響

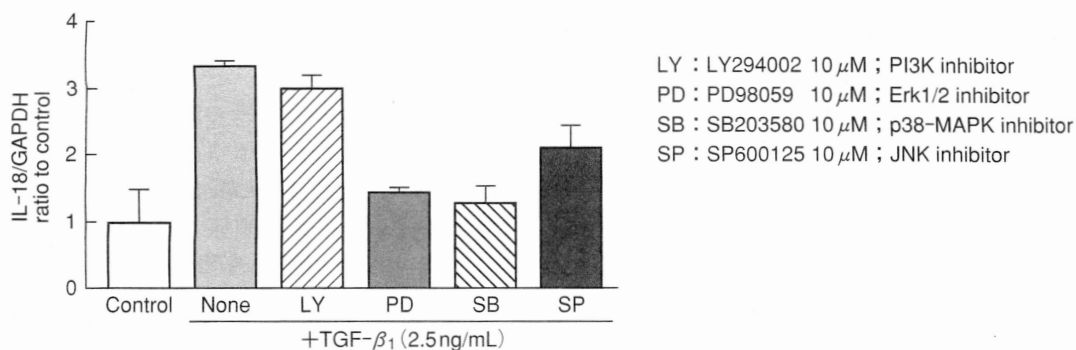


図4 TGF- $\beta$ によるIL-18 mRNA発現亢進に対するMAPK阻害薬の作用

近年IL-18がアディポサイトカインとして認識されていることを踏まえて、われわれは“Renometabolic Syndrome”の概念を提唱したい。この概念には現在までの研究で以下の3項目が含まれると考える。まず、①IL-18を含むアディポサイトカインが腎臓に発現して慢性腎臓病(CKD)発症に関与する可能性。次いで②脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインが腎臓に働いてCKDを惹起する可能性。そして③腎臓における脂質代謝異常がCKD発症に関与する可能性である。

今回の検討ではさらにHMCに adiponectin

mRNA, HMCおよびHRPTECに adiponectin 受容体mRNAの存在が確認された。脂質代謝異常に関しては、HRPTEC細胞質内においても脂質の集積を認め、尿細管細胞における脂質代謝異常が腎細胞機能、さらにはCKDの病態に影響を及ぼすことが推察された。メタボリックシンドロームは心血管疾患の危険因子として知られているが、同様の病態が腎臓にも存在し糖尿病性腎症およびCKDの危険因子として働いていると考える。そこで、この病態を“Renometabolic Syndrome”と呼び、CKDとの関連性について今後も検討していきたいと考えている。

討 論 座長 筑波大学大学院人間総合科学研究科内分泌代謝・糖尿病内科 山田信博

山田(座長) ご質問、ご討議をお願いします。

卯木(滋賀医科大学内分泌代謝内科) 糖尿病性腎症の主病態はメサンギウム細胞の増殖と考えま

すが、尿細管細胞で発現しているIL-18がどのように腎症の病因として関与しているのか、データがあれば教えてください。また、慢性腎炎などでも検討されていますか。

滝山(演者) 直接的なデータはもっていませんが、岡山大の報告では血中IL-18と尿中 $\beta_2$ マイクログロブリンとの間で相関を認めたことからIL-18が尿細管障害のマーカーになることが示唆されています。糖尿病性腎症でもかなりの頻度で尿細管病変が認められますので、その関与を考えています。慢性腎炎については検討していませんが、ループス腎炎やANCA関連腎炎でIL-18の発現が亢進しているという報告があります。

小川(神戸大学糖尿病代謝内分泌内科) TGF- $\beta$ は糸球体で高発現すると考えていましたが、糖尿病性腎症では尿細管でも高発現するのでしょうか。

羽田(旭川医科大学病態代謝内科学分野, 共同演者) 糖尿病では、TGF- $\beta$ は糸球体だけでなく尿細管でも発現が増加し、腎臓肥大と尿細管間質の線維化に関与するといわれています。

山田 肥満や高血糖との関連で、どちらがIL-18の上流にあるとお考えですか。

滝山 アディポサイトカインの一つであり、肥満が上流にあると考えます。

山田 すると糖尿病性腎症よりも肥満での関連が強いののでしょうか。

滝山 IL-18発現は体重の増減でも動くという報告がでていますので、その影響を省くことはできないと思います。

山田 メタボリックシンドロームの病態の特徴はリスク重積にあります。IL-18とリスク重積をどのようなメカニズムでお考えですか。

滝山 IL-18は高血圧や高脂血症には直接は結びつきませんが、腎臓に発現することで炎症や動脈硬化、さらにはインスリン抵抗性にも関与するのではないかと考えています。リスクファクターとのつながりは明らかではありませんが、動脈硬化性疾患との関連については数多く報告されていますので、リスクを増加させると思います。

柏木(滋賀医科大学内分泌代謝内科) 他の動脈組織でもTGF発現の病態への関与は重要だと思いますが、心筋でのIL-18発現はいかがでしたか。また、いろいろ間質障害を起こす病態がありますが、尿細管組織を含めて染色所見のデータがありますか。

滝山 それらの点については検討していませんが、心筋梗塞やIMT肥厚などの臨床データとIL-18の血中濃度との関連を検討した報告はしています。

柏木 肝臓でも脂肪でも尿細管の局所でもIL-18が産生されていますが、病態によって血中レベルが異なるのでしょうか。たとえば、肥満、糖尿病、虚血などで産生される部位やレベルが変わってくるのか、報告がありますか。

滝山 肝臓に関する報告はほとんどありませんが、動脈硬化性疾患では血管内皮から、体重増減では脂肪細胞から分泌されるという報告があります。

吉松(大分大学内科学第一) 肥満症患者でしばしば蛋白尿が認められ、以前は“hyperfiltration”として説明されていましたが、先生の発表によれば、これは“lipotoxicity”の問題として捉えることができるのでしょうか。肥満例では合併症がない場合でも、そうした変化が起こっているのでしょうか。

滝山 単純な肥満例での検討は行っていませんが、メサングウム細胞でも尿細管でもIL-18受容体が発現していたことから、脂肪細胞から分泌されるIL-18がメサングウム細胞や尿細管に働いて、蛋白尿を引き起こすメカニズムが存在すると考えております。