

Impairment of the carnitine/organic cation transporter 1-ergothioneine axis is mediated by intestinal transporter dysfunction in chronic kidney disease

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-10-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Shinozaki, Yasuyuki メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00055876

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



【総説】

第17回 高安賞優秀論文賞受賞

論文 「Impairment of the carnitine/organic cation transporter 1-ergothioneine axis is mediated by intestinal transporter dysfunction in chronic kidney disease」
Kidney International 92(6):1356-1369, 2017 平成29年12月掲載
Yasuyuki Shinozaki, Kengo Furuichi, Tadashi Toyama,
Shinji Kitajima, Akinori Hara, Yasunori Iwata, Norihiko Sakai,
Miho Shimizu, Shuichi Kaneko, Noriyoshi Isozumi, Shushi Nagamori,
Yoshikatsu Kanai, Tomoko Sugiura, Yukio Kato, Takashi Wada

「慢性腎臓病では、腸管トランスポーターの機能不全によってカルニチン/
有機カチオントランスポーター 1-エルゴチオネイン系が障害される」

篠崎 康之 (しのざき やすゆき)

背 景

慢性腎臓病 (Chronic Kidney Disease: CKD) の病態は、全身臓器と密接に関連していることが知られている。腎性貧血のように、その病態機序が原因が解明され、治療薬への応用された例がある一方で、多くの臓器連関の機序は未だに不明である。腎臓と腸管との関連については、腸内細菌叢が慢性腎臓病 (CKD) で変化していること¹⁾や、急性腎障害で変化した腸内細菌叢によって産生されるD-セリンが腎保護的な作用を示すことが報告されており²⁾、近年注目されている。

我々はこのCKDにおける臓器連関の機序を検討するために、トランスポーターに着目した。腎臓、腸管、肝臓といったホメオスタシスに重要な臓器には同一のトランスポーター発現している。従って、各臓器のトランスポーターの変化は、CKD患者の全身臓器の病態に影響を与える可能性が考えられる。本研究では、食餌由来の抗酸化物質であるエルゴチオネインと、Carnitine/Organic Cation Transporter 1 (OCTN1) に焦点をあてた。OCTN1は、腎臓、小腸をはじめ、ユビキタな臓器に発現している有機カチオントランスポーターである。また、エルゴチオネインを基質とする唯一のトランスポーターであることが知られている³⁾。エルゴチオネインはキノコなどの真菌類によって合成される含硫アミノ酸の一つであり、哺乳類では食餌中から小腸のOCTN1を介して血液中に吸収され、各臓器のOCTN1により細胞内に取り込まれる。エルゴチオネインは活性酸素の除去作用を有し、脂質過酸化阻害、DNA・蛋白損傷抑制性などの作用が*in vitro*で多数報告されている⁴⁾。CKDによるトランスポーターの変化が、OCTN1-エルゴチオネイン系およびCKDの病態に影響を及ぼす可能性について検討した。

結果と考察

はじめに、CKDモデルマウス (右腎摘+左腎虚血再灌流障害) を作成し、腎臓でのOCTN1-エルゴチオネイン系の評価を行った。CKDマウスの腎臓のOCTN1発現は亢進し、経静脈的に投与した³Hエルゴチオネインの腎臓への取り込みは、コントロールマウスと比較して約3倍程度に増加していた (図1A, B)。また、尿細管上皮培養細胞を用いた検討により、インドキシル硫酸によって誘導された酸化ストレスでOCTN1の発現が増加し、エルゴチオネインを加えることによって容量依存的に酸化ストレスが軽減されることも確認された。これらの結果から、腎臓でのOCTN1-エルゴチオネイン系は、CKDにおける酸化ストレスによる腎障害の進展を抑制する機能があると考えられた。一方で、体内のエルゴチオネイン量の指標となる赤血球中のエルゴチオネインの絶対量はCKDマウスで減少していた。腎臓ではOCTN1の発現、機能が增加しているにも関わらず、腎臓内のエルゴチオネイン量

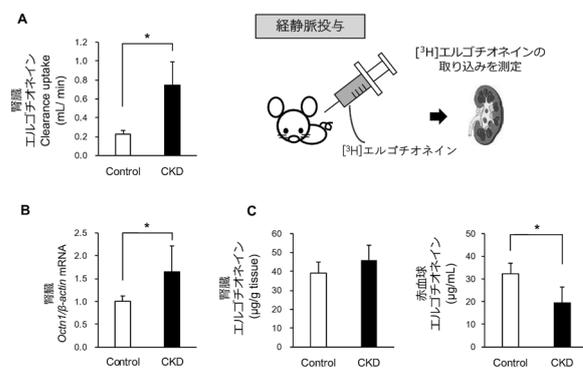


図1. A. 静脈内投与したエルゴチオネインの腎臓への取り込み
B. 腎臓のOCTN1 mRNA発現
C. 腎臓、赤血球中のエルゴチオネイン
(n=4-5) *P < 0.05.

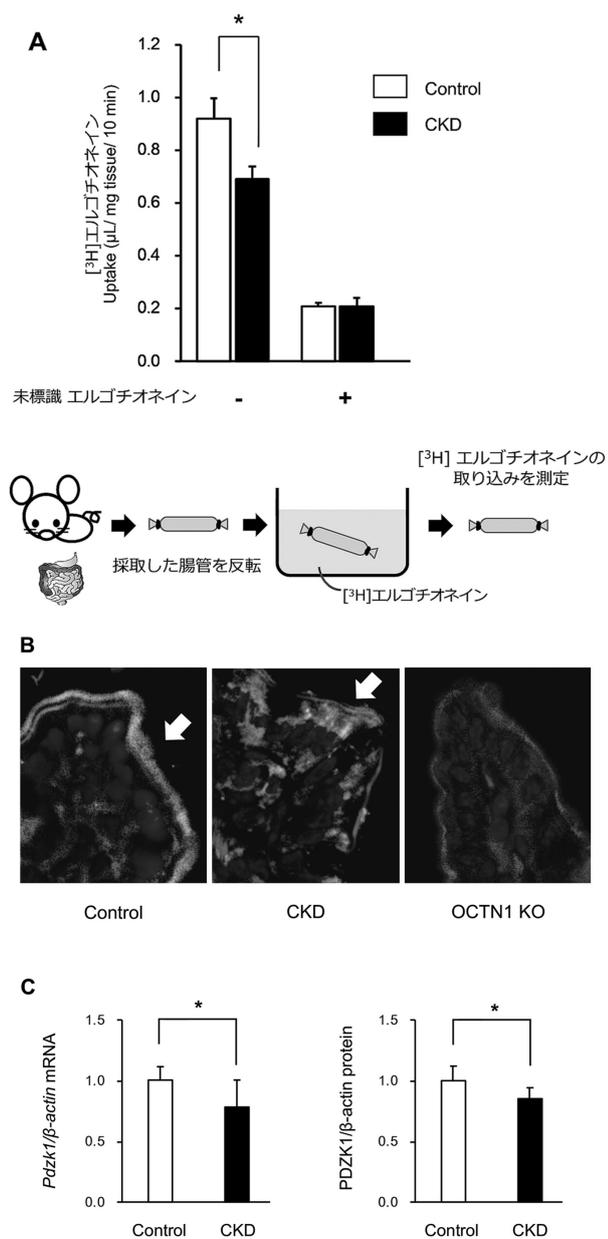


図2. A. 反転腸管法によるエルゴチオネインの取り込み (n=6)
 B. 小腸組織の OCTN1 免疫組織染色
 C. 小腸粘膜上皮の PDZK1 発現量 (n=6)
 *P < 0.05.

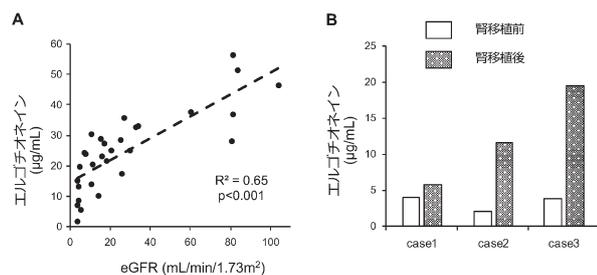


図3. A. CKD 例の赤血球中のエルゴチオネインと eGFR との関係 (n=51)
 B. 腎移植を行った 3 例の移植前後でのエルゴチオネインの変化

は増加していなかった (図1C). したがって, CKD マウスでは, 食餌中のエルゴチオネインを体内に取り込む小腸の OCTN1 の機能が低下していることが推測された.

そこで, 小腸の OCTN1 によるエルゴチオネインの取り込む機能を評価した. 小腸を摘出, 反転し, [3H]エルゴチオネインの溶液中に入れ, 放射活性を測定する方法を用いた. その結果, CKD マウスの小腸では, [3H]エルゴチオネインの取り込みが低下していた. アイソトープでラベルしていないエルゴチオネインを添加して小腸の OCTN1 を飽和状態にした上で同じ実験を行うと, [3H]エルゴチオネインの取り込みはコントロールのレベルまで低下し, コントロールマウスの小腸との差がなくなった. この結果から, CKD マウスの小腸では, OCTN1 を介したエルゴチオネインの吸収が低下していることが確認された (図2A). 小腸上皮細胞の OCTN1 発現量は, mRNA, 蛋白レベルとも有意な変化を認めなかった. しかし, 免疫組織染色で OCTN1 の発現部位を確認すると, CKD マウスでは小腸上皮細胞の管腔側細胞膜上に発現する OCTN1 が減少し, 一部は細胞質内に留まっていることが観察された (図2B). これらの結果, CKD マウスでは OCTN1 の小腸上皮細胞膜上への局在が障害されることでエルゴチオネインの輸送機能が低下すると考えられた.

次に, OCTN1 の局在が障害された機序を検討した. 小腸上皮の定量的プロテオミクス解析を行ったところ, 小腸管腔側のトランスポーターの発現, 機能を調節するアダプター蛋白である PDZ domain-containing 1 (PDZK1) の発現が, CKD モデルマウスで低下していた. PDZK1 の変異によって OCTN1 の細胞膜上への発現が障害されることが報告されている⁵⁾ことから, CKD では小腸の PDZK1 発現が減少し, OCTN1 の細胞膜上への局在が障害されることで, エルゴチオネインの吸収が減少することが示唆された.

エルゴチオネインの腎障害や酸化ストレスにおける影響を検討するために, OCTN1 ノックアウトマウスで CKD モデルを作成した. OCTN1 ノックアウトマウスは体内のエルゴチオネインが欠乏しているものの, その表現系は通常の生育・繁殖下においては野生型マウスとの違いは認められない. しかし腎臓に障害を加えた CKD モデルにおいては, OCTN1 ノックアウトマウスは腎機能の悪化, 酸化ストレスマーカーの上昇, 線維化の増悪を認めた. これらの結果から, エルゴチオネインの抗酸化作用が腎保護的に作用していること, エルゴチオネインの欠乏が腎障害の進展に寄与する可能性が示された.

最後に, CKD 患者の血液サンプルを用いて, 赤血球中のエルゴチオネインを測定した. エルゴチオネインは eGFR の低下と相関して減少していた. 腎性貧血の影響も考慮されたが, 貧血の程度とは有意な相関を認めなかった. さらに, 腎移植により維持透析から離脱した 3 例について, 移植前と移植後 10 か月経過した状態の血液サンプルで比較したところ, エルゴチオネインは 3 例と

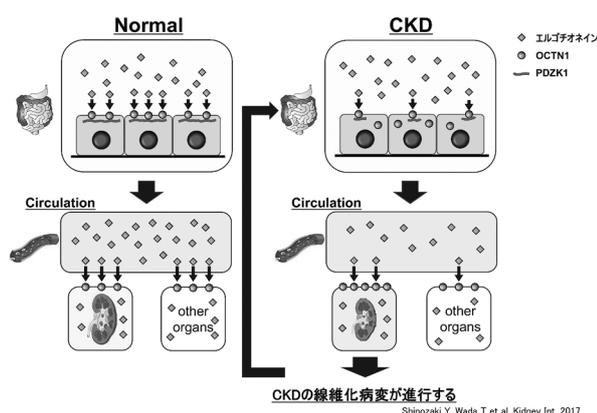


図4. CKDにおけるOCTN1-エルゴチオネイン系を介した腎腸連関
Shinozaki Y, Wada T et al. *Kidney Int.* 2017

も移植後に増加していた(図3)。体内のエルゴチオネインは全て食餌から腸管のOCTN1によって取り込まれることから、CKD患者ではマウスモデルの結果と同様に腸管のOCTN1の機能が低下している可能性が考えられた。以上の結果から、CKDの進行によって、本来は臓器保護的な役割を持つOCTN1-エルゴチオネインが、腸管のトランスポーターの変化によって機能不全に陥り、さらにCKDが進行する悪循環が存在すると考えられる(図4)。

結 論

CKDによる腎腸連関、ことに腸管トランスポーターの変化がCKDの病態に関与している可能性が考えられた。そのメカニズムは腸内細菌叢やその代謝物質などの腸内環境の変化や、血液中の尿毒素物質、あるいは迷走神経系を介したシグナル等が推測されるが、現在のところ明らかではない。また、腎腸連関がCKDの病態にどの程度のインパクトをもたらしているか、OCTN1-エルゴチオネインが治療に応用できるかについても、今後さらなる検討が必要である。

謝 辞

本研究を行うにあたり、ご指導いただきました金沢大学大学院医薬保健学総合研究科消化器内科学 金子周一教授、金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 腎臓内科学 和田隆志教授、附属病院血液浄化療法部 古市賢吾先生(現金沢医科大学)、共同研究としてご協力いただきました金沢大学医薬保健学域薬学類分子薬物治療学 加藤将夫教授、杉浦智子先生、大阪大学大学院医学系研究科生体システム薬理学 金井好克教授、永森収志先生、五十棲規嘉先生および関係各位の先生方に、この場をお借りして心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) Vaziri ND, Wong J, Pahl M, et al. Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora. *Kidney Int* 83:308-315, 2013
- 2) Nakade Y, Iwata Y, Furuichi K, et al. Gut microbiota-derived D-serine protects against acute kidney injury. *JCI Insight* 3:e97957, 2018
- 3) Kato Y, Kubo Y, Iwata D, et al. Gene knockout and metabolome analysis of carnitine/organic cation transporter OCTN1. *Pharm Res* 27:832-840, 2010
- 4) Cheah IK, Halliwell B. Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochim Biophys Acta* 1822:784-793, 2012
- 5) Sugiura T, Kato Y, Kubo Y et al. Mutation in an adaptor protein PDZK1 affects transport activity of organic cation transporter OCTNs and oligopeptide transporter PEPT2. *Drug Metab Pharmacokinet.* 21:375-383,2006



Profile

2005年 金沢大学医学部医学科卒業
2018年 金沢大学大学院医学系研究科博士課程修了
2019年 富山県立中央病院 内科
専門分野：腎臓内科学、リウマチ内科学