

# ATP 動態から見る虚血後糸球体障害の病態解明

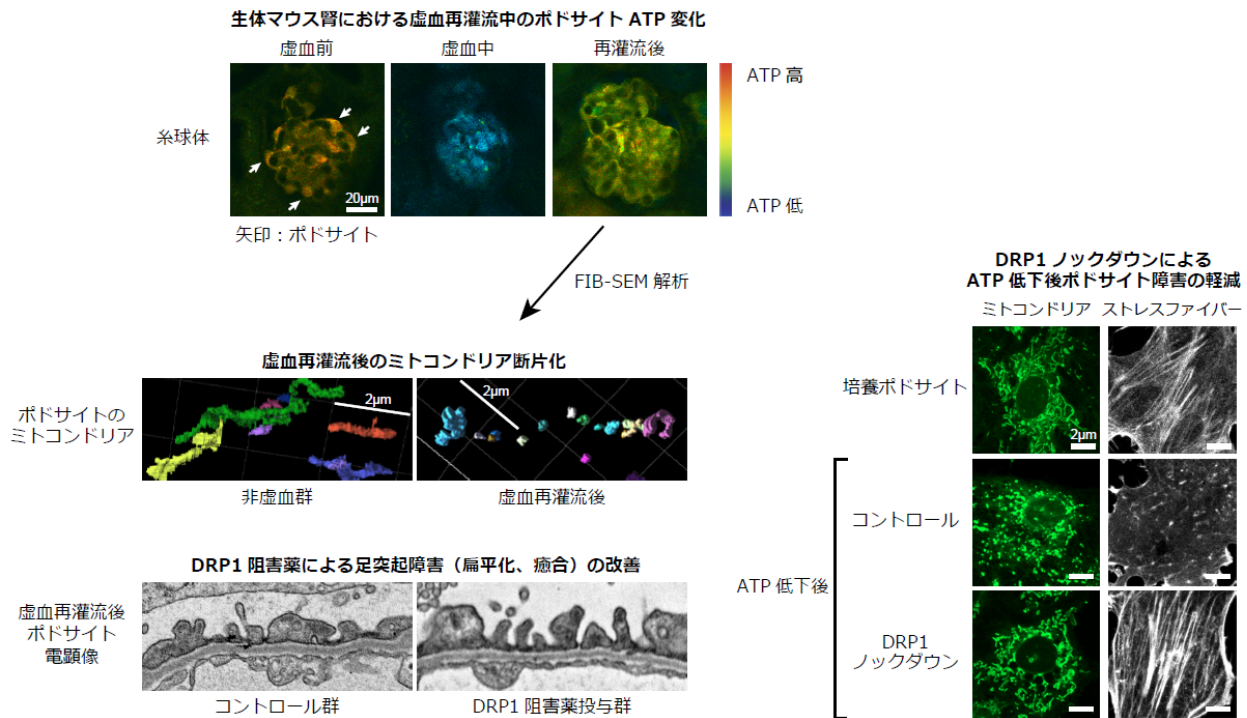
## —ミトコンドリア分裂抑制によるポドサイト保護—

### 概要

急性腎障害（AKI）は慢性腎臓病や末期腎不全へ移行するリスクがあり、近年発症数が増加していることから、その病態解明と治療法の確立が急務になっています。京都大学医学研究科腎臓内科学 柳田素子教授（兼：高等研究院ヒト生物学高等研究拠点（WPI-ASHBi）主任研究者）、京都大学医学部附属病院腎臓内科学 高橋昌宏医師らの研究グループは、これまで細胞内のアデノシン三リン酸（ATP）濃度を可視化する FRET<sup>1</sup> バイオセンサーを全身発現させたマウスを用いて腎臓内のエネルギー動態を解析してきました。

本研究では、腎臓が尿を濾過生成する「糸球体」のバリアを構成する細胞「ポドサイト」に着目し、虚血性 AKI モデルにおけるポドサイトの ATP 濃度の低下とそれに伴うミトコンドリア障害がポドサイトのバリア機能を担う「足突起」の構造異常に関与している可能性を見出しました。また、同モデルにおけるミトコンドリアの過剰な分裂を抑えることでポドサイトの障害が緩和される可能性も見出しました。これまでは AKI の病態は尿細管障害を中心に解析されてきましたが、本研究の結果は従来注目されてこなかった糸球体の細胞における AKI の病態解明を前進させ、多角的な観点から AKI の治療法の確立に寄与するものと考えられます。

本研究成果は、2024 年 11 月 22 日に、国際学術誌「*Nature Communications*」にオンライン掲載されました。



図：ATP 低下によるポドサイト構造異常はミトコンドリア断片化の抑制により緩和される

## 1. 背景

急性腎障害 (AKI) はかつて“治る病気”と考えられていましたが、慢性腎臓病や末期腎不全への移行リスクが高いことが分かり、病態解明や治療法の開発が進められてきました。腎臓の機能は尿の濾過生成を担う「糸球体」と尿の濃縮や調整を行う尿細管に大別されますが、AKI の中でも頻度が高い虚血性 AKI は主に尿細管障害が中心とされており、糸球体に対する影響は十分解明されていませんでした。我々はこれまでに、細胞内アデノシン三リン酸 (ATP) 濃度を可視化する FRET<sup>1</sup> バイオセンサーを全身発現させたマウスの腎臓を二光子顕微鏡で観察することで、生体腎の ATP 濃度をリアルタイムに解析する手法を確立しました。ATP は細胞の「エネルギー通貨」とも呼ばれ、糸球体のポドサイトにおいては尿の濾過に重要な足突起の形態維持に必須とされています。臨床的にも、ATP 産生を担うミトコンドリアの遺伝子異常がネフローゼ症候群<sup>2</sup>の原因になることや虚血との関連が深い AKI 後や腎移植後にタンパク尿が増加することが報告されています。我々は、虚血性 AKI においてポドサイトの ATP 異常が生じた結果、ポドサイト障害が生じているのではないかと考え、ATP 変動の解析という観点から虚血後のポドサイト障害について解明することにしました。

## 2. 研究手法・成果

我々はまず、野生型マウスに虚血再灌流障害を惹起し、障害慢性期にポドサイトの足突起癒合とアルブミン尿の増加が認められることを確認しました。そこで、虚血再灌流超急性期のポドサイトの ATP 変化を観察すると、近位尿細管 (ATP 産生をミトコンドリアに依存) よりも緩やかに ATP が低下したため、ポドサイトではミトコンドリアのみならず解糖系によっても ATP 産生を行っていることが示唆されました。その一方で、虚血時間が伸びるにつれて再灌流後のポドサイトのミトコンドリアが断片化し ATP 回復も悪化することが分かりました。次に、障害慢性期の電顕像を確認すると、ミトコンドリア断片化が強く残っている個体ほどポドサイトの足突起癒合が強く、さらには虚血再灌流障害超急性期にポドサイトの ATP 回復が悪かった個体ほど慢性期のミトコンドリア断片化と足突起癒合が強いことがわかりました。ATP 低下、ミトコンドリア障害、足突起癒合の因果関係を明らかにするために、虚血再灌流障害を培養液中で再現する実験を行いました。ATP 低下ストレスにさらされた培養ポドサイトではミトコンドリア断片化と細胞骨格の異常が生じましたが、ミトコンドリア分裂因子である DRP1 の阻害薬を加えたり、DRP1 を siRNA<sup>3</sup> でノックダウンするとミトコンドリア断片化が軽減するとともにポドサイトの細胞骨格の異常も軽減しました。さらには、DRP1 阻害薬を虚血再灌流障害後の野生型マウスに投与すると障害慢性期の足突起癒合が改善することも確認しました。以上の結果から、虚血再灌流後のポドサイトの足突起癒合には虚血再灌流障害超急性期の ATP 低下とミトコンドリア断片化、そしてその後の ATP 回復不良が関与していること、ミトコンドリア分裂因子の DRP1 を抑えることでこれらの障害が軽減する可能性があることが示唆されました。

## 3. 波及効果、今後の予定

今回、虚血性 AKI の実験モデルにおいて ATP 動態とポドサイト障害の関連について検討を行いました。ポドサイト障害が尿細管障害や腎臓全体の障害にどのように寄与しているのかということは今後解明すべき重要な課題と言えます。さらには、本研究ではマウスに DRP1 阻害薬を投与し虚血後ポドサイト障害の改善を確認しましたが、より腎臓やポドサイトに特異的に作用する治療法や薬剤の開発も、今後の AKI の治療法開発に関連して重要になると思われます。

#### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は以下の資金の援助を受けて行われました（以下、研究開発代表者：柳田素子）。

- ・国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）・革新的先端研究開発支援事業（AMED－CREST）「生体組織の適応・修復機構の時空間的解析による生命現象の理解と医療技術シーズの創出」研究開発領域における研究開発課題「腎臓病において組織障害と修復を制御する微小環境の解明と医学応用」、腎疾患実用化研究事業「ヒト腎臓病における3次リンパ組織の役割の解明と治療介入対象としての蓋然性の検討」、健康・医療分野におけるムーンショット型研究開発等事業「炎症誘発細胞除去による100歳を目指した健康寿命延伸医療の実現」、橋渡し研究戦略的推進プログラム「アカデミア発先端医療技術の早期実用化に向けた実践と連携」、老化メカニズムの解明・制御プロジェクト 個体・臓器老化研究拠点
- ・文部科学省科学研究費助成事業新学術領域研究・学術研究支援基盤形成「腎構成細胞「亜集団」の細胞老化が腎臓の老化と障害応答性に与える影響の解明」
- ・文部科学省科学研究費助成事業新学術領域研究・学術研究支援基盤形成「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」

#### <用語解説>

1. FRET (Fluorescence resonance energy transfer)：蛍光共鳴エネルギー移動の略称。本システムでは、細胞内 ATP が高い時に蛍光共鳴エネルギー移動という現象が起こり、顕微鏡で感知できる緑色とオレンジの蛍光色の強度の割合が変化することで ATP 量が検出される仕組みとなっています。
2. ネフローゼ症候群：腎臓の糸球体では血液から尿の元となる原尿が濾過生成されますが、ポドサイトの足突起、糸球体基底膜、糸球体内皮細胞により構成される濾過バリアによりアルブミンなどの重要な血中タンパクや血球などが濾過されないようになっています。ネフローゼ症候群では様々な原因でこの濾過バリアが破綻し、大量のタンパク尿を来し、低タンパク血症や浮腫が出現します。
3. siRNA (small interfering RNA)：二十数塩基対からなる短い二本鎖 RNA であり、相補的な配列を持つメッセンジャーRNAの分解を引き起こし（RNA干渉）、遺伝子の発現を抑制します。

#### <研究者のコメント>

「かつては“治る病気”とされてきた AKI が長期的な腎臓の予後に影響を与えうることが明らかになり、AKI 研究が大きく拡大しました。これまで尿細管障害を中心に解析されてきた AKI ですが、我々の研究により、糸球体やポドサイトにも ATP 低下やミトコンドリア障害を介して障害が生じるのだということが示唆されたことで、今後 AKI 研究が別の方向にも広がっていくことを期待しております。」（高橋昌宏）

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：ATP dynamics as a predictor of future podocyte structure and function after acute ischemic kidney injury (ATP 動態による虚血性急性腎障害後のポドサイト構造および機能の予後予測)

著者：Masahiro Takahashi, Synya Yamamoto, Shigenori Yamamoto, Akihiro Okubo, Yasuaki Nakagawa, Koichiro Kuwahara, Taiji Matsusaka, Shingo Fukuma, Masamichi Yamamoto, Michiyuki Matsuda, Motoko Yanagita

掲載誌：Nature Communications

DOI：10.1038/s41467-024-54222-0