

クロドロネートリポゾームによるマクロファージ除去は疲労困憊運動誘導性の腎傷害を抑制する

Macrophages depletion by clodronate liposome attenuates exhaustive exercise-induced acute kidney injury

1K10C199 佐藤 研

主査 鈴木 克彦先生 副査 赤間 高雄先生

【目的】

マラソンなどの激運動は急性腎傷害を誘導する。実際にマラソン後の走者の約 20%の尿サンプルから潜血反応が検出されたと報告されている。当研究室でも、デュアスロン競技後に腎傷害マーカーである血清中のクレアチニンが増加すること、尿中に蛋白や尿細管上皮細胞および円柱が確認されることを報告している。しかしながら、疲労困憊運動誘導性の腎傷害のメカニズムは解明されていない。

近年、虚血再灌流誘導性の腎傷害ではマクロファージが関与していることが明らかにされている。したがって、疲労困憊運動誘導性の腎傷害にもマクロファージが関与している可能性がある。そこで本研究では、クロドロネートリポゾームを用いてマクロファージを除去したマウスを作製し、疲労困憊運動誘導性の急性腎傷害におけるマクロファージの関与を検討した。

【方法】

10 週齢の C57/BL6J 雄マウスを無作為に安静群 (n=8)、安静+マクロファージ除去群 (n=8)、疲労困憊運動群 (n=8)、疲労困憊運動+マクロファージ除去群 (n=8) の 4 群に分けた。マクロファージ除去群には、クロドロネートリポゾームを 150 μ l、マクロファージ非除去群にはコントロールリポゾームを 150 μ l 腹腔内投与した。疲労困憊運動群には、傾斜 7%の条件下において 10m/min で 15 分、15m/min で 15 分、20m/min で 15 分、その後 24m/min で疲労困憊に至るまで走行負荷した。疲労困憊運動 24 時間後に腎臓を摘出した。腎切片を作製した後、腎臓の組織学的評価として HE 染色、F4/80、KIM-1、TNF- α 、MCP-1 の免疫染色を行った。また、腎臓から RNA を抽出した後、遺伝子発現量を real-time PCR を用いて定量した。

【結果】

疲労困憊に至るまでの走行時間は、疲労困憊運動群では 161.0 分 $\pm$ 14.2 分、疲労困憊運動+マクロファージ除去群では 187.7 分 $\pm$ 13.8 分であった。疲労困憊運動群と比較して疲労困憊運動+マクロファージ除去群では有意な差はみられなかった。

腎内マクロファージはマクロファージ特異的なマーカーである F4/80 および免疫染色で評価した。腎内 F4/80 発現は、安静群と比較して安静+マクロファージ除去群では有意な低値

を示した。また、安静群と比較して疲労困憊運動群では有意な高値を示した。さらに、疲労困憊運動群と比較して、疲労困憊運動+マクロファージ除去群では有意な低値を示した。

疲労困憊運動による急性腎損傷を HE 染色および腎傷害マーカーである KIM-1 を用いて定量した。安静群と比較して疲労困憊運動群では、腎傷害の所見である炎症細胞の浸潤、糸球体の腫大、尿細管の拡張が確認された。しかしながら、疲労困憊運動群と比較して、疲労困憊運動+マクロファージ除去群ではこれらの腎損傷所見が軽減された。また、KIM-1 の発現は安静群と比較して疲労困憊運動群では有意に増加した。しかし、KIM-1 発現は疲労困憊運動群と比較して、疲労困憊運動+マクロファージ除去群では有意な低値を示した。

疲労困憊運動後の腎臓における炎症反応を炎症性サイトカインである TNF- α およびマクロファージのケモカインである MCP-1 を用いて検討した。TNF- α は、安静群と比較して疲労困憊運動群では有意な高値を示した。さらに、TNF- α は疲労困憊運動群と比較して、疲労困憊運動+マクロファージ除去群では有意な低値を示した。MCP-1 は、運動による主効果が確認されたが、マクロファージ除去の主効果および相互作用は示されなかった。

【考察】

本研究では、疲労困憊運動によって腎傷害が誘導され、マクロファージ除去によって抑制されることが示された。マクロファージ除去は虚血再灌流誘導性の腎傷害を抑制することが知られている。したがって、本研究における疲労困憊運動誘導性の腎傷害においてもマクロファージが関与していると考えられる。また、本研究では疲労困憊運動誘導性の腎臓における TNF- α の増加がマクロファージ除去によって抑制された。したがって、本研究における疲労困憊運動誘導性の腎臓における炎症反応もマクロファージが関与していると考えられる。

【結論】

疲労困憊運動により腎傷害および炎症反応が引き起こされたが、マクロファージの除去により、腎傷害および炎症が抑制されることが確認された。したがって、マクロファージは疲労困憊運動誘導性の腎傷害に関与していると考えられる。