



IL-17A activated by Toll-like receptor 9 contributes to development of septic acute kidney injury

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2020-04-09 キーワード: 作成者: 内藤, 善隆 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003713

博士 (医学) 内藤 善隆

論文題目

IL-17A activated by Toll-like receptor 9 contributes to development of septic acute kidney injury

(Toll 様受容体 9 によるインターロイキン-17A の活性化は敗血症性急性腎障害の進展に寄与する)

論文の内容の要旨

[はじめに]

急性腎障害(AKI)は重症疾患によく合併し、ICU では敗血症が AKI の最多の原因である。敗血症性 AKI は予後不良で死亡率は 60-70%である。しかし、敗血症が AKI を起こす機序は明らかではない。我々はこれまでに、障害臓器から内因性に放出されるミトコンドリア DNA が、Toll 様受容体 9 (Toll-like receptor 9: TLR9) の活性化を介して敗血症性 AKI の進展に寄与することを報告した。しかし TLR9 から AKI に至る下流の経路は検討されていない。TLR9 経路の下流因子としてのインターロイキン-17A(IL-17A)が敗血症性 AKI を進展させていると仮説を立てた。

[材料ならびに方法]

本研究は、浜松医科大学の組換え DNA 実験安全委員会および動物実験委員会で承認された (承認番号 2017046 (H29-049))。敗血症において TLR9 が IL-17A の産生に与える影響を調べるために、*Tlr9* ノックアウトマウス (*Tlr9KO*)、野生種マウス(WT)に盲腸結紮穿孔手術(cecal ligation and puncture: CLP)を行った。また、*in vitro* で樹状細胞の TLR9 活性化から $\gamma\delta$ T 細胞の IL-17A 産生に至る経路を調べた。IL-17A が敗血症性 AKI に与える影響を調べるために、*Il17a* ノックアウトマウス(*Il17aKO*)と WT に CLP を行い、術後の生存率、腎機能を比較した。*Tlr9KO*、WT においても同様の比較を行った。TLR9/IL17A 経路と敗血症性 AKI の関係についてさらに検証するために、リコンビナント IL-17A(rIL-17A)もしくはその溶媒のみを CLP 直後に *Tlr9KO* に静注し、術後の腎機能を比較した。

[結果]

CLP 3, 6, 18 時間後の血漿、18 時間後の腹腔中における IL-17A 濃度と 2 時間後の脾臓のインターロイキン-23(IL-23)の mRNA は、WT と比較し *Tlr9KO* で低下していた。*in vitro* で骨髄由来樹状細胞の TLR9 を刺激すると IL-17A は産生されなかったものの IL-23 を含む上清が産生され、さらにこの上清、もしくはリコンビナント IL-23(rIL-23)により $\gamma\delta$ T 細胞の IL-17A 産生が誘導された。*Il17a* をノックアウトすると、CLP 後の生存率、AKI が有意に改善した (18 時間後の血漿クレアチニン (Cr)(mg/dL) は WT sham 群 0.10 ± 0.01 、*Il17aKO* sham 群 0.12 ± 0.02 、WT CLP 群 0.29 ± 0.15 、*Il17aKO* CLP 群 0.18 ± 0.07)。また *Tlr9KO* も WT と比較

して、CLP後の生存率、AKIが有意に改善することを確認した（18時間後の血漿Cr(mg/dL)はWT sham群 0.10 ± 0.00 、*Tlr9*KO sham群 0.11 ± 0.02 、WT CLP群 0.45 ± 0.15 、*Tlr9*KO CLP群 0.27 ± 0.12 ）。*Tlr9*ノックアウトによって改善していたCLP後のAKIは、rIL-17Aの投与によって再増悪した（18時間後の血漿Cr(mg/dL)は溶媒群 0.26 ± 0.13 、rIL-17A群 0.45 ± 0.23 ）。

[考察]

敗血症性AKIにおけるTLR9/IL-17A経路の役割について初めて報告した。肺抗酸菌感染、過敏性肺炎などにおいてTLR9がIL-17A産生に影響を及ぼすことで病態に関与することが報告されてきた。これらの病態では樹状細胞のTLR9がIL-17A産生の調節に重要であった。また、ジフテリア毒素を用いて樹状細胞を枯渇させると、CLP後の血中IL-17A濃度が低下することが報告された。これらの所見から、樹状細胞のTLR9が敗血症におけるIL-17A産生に重要である可能性を考えた。樹状細胞のTLR9を刺激するとIL-23が産生され、IL-23刺激により $\gamma\delta$ T細胞からIL-17Aが産生された。IL-23は $\alpha\beta$ T細胞や $\gamma\delta$ T細胞を刺激してIL-17Aを産生させることが知られている。以前の報告によれば、 $\gamma\delta$ T細胞の欠損ではCLP後の血中IL-17A濃度はほぼ完全に抑制されたが、Th17細胞を含む $\alpha\beta$ T細胞の欠損はIL-17A濃度に影響を与えなかった。この結果より $\gamma\delta$ T細胞に注目した。in vivoにおいても*Tlr9*KO、*Il17a*KOの両方でWTと比べCLP後のAKIが改善し、*Tlr9*KOではCLP後のIL-23発現やIL-17A産生が低下していた。さらに*Tlr9*KOにrIL-17Aを投与すると改善していた腎機能障害が再増悪した。これらの所見からTLR9刺激がIL-17A産生を介して敗血症性AKIを悪化させている可能性が示唆された。

[結論]

敗血症において樹状細胞のTLR9は $\gamma\delta$ T細胞のIL-17A産生を仲介し、敗血症性急性腎障害の進展に寄与する。