

## 尿路の障害に対し、動物とヒトは共通した機構で応答する

～新しい考え方：尿は壊れた尿路から生体に戻り、17 型コラーゲンを介して尿路の修復が始まる～

### ポイント

- ・尿の通路（尿路）が閉塞すると、尿路を保護する上皮バリアが壊れ、尿が生体に戻ることを証明。
- ・本来皮膚で機能する 17 型コラーゲンが、ネコやヒトの壊れた尿路上皮に現れることを発見。
- ・17 型コラーゲンは尿路上皮の再構築と免疫誘導に関連し、診断・治療の標的になることを想定。

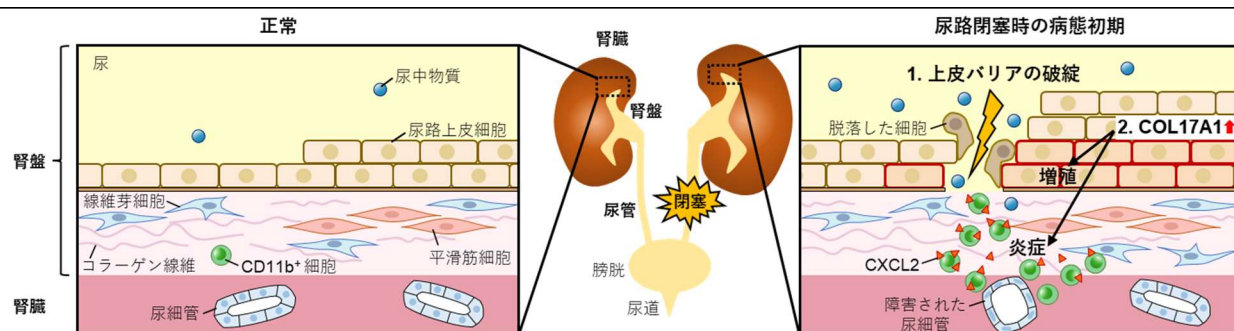
### 概要

北海道大学大学院獣医学院の難波貴志氏（研究当時博士課程 4 年）、同大学大学院獣医学研究院の市居 修教授、昆 泰寛教授（研究当時）、中村鉄平准教授、同大学 One Health リサーチセンターの大谷祐紀特任助教、同大学大学院医学研究院の夏賀 健准教授らの研究グループは、ネコ、マウス、ヒトにおいて尿路上皮<sup>\*1</sup>が、閉塞などによって壊れると“17 型コラーゲン（COL17A1）<sup>\*2</sup>”を発現し、COL17A1 は尿路上皮の再構築とその下層の局所免疫反応に関与することを見出しました。

これまで本グループは、ヒトや疾患モデルマウスの病理組織を調べ、腎炎に罹患すると腎臓内の腎盤<sup>\*3</sup>に三次リンパ組織である尿路関連リンパ組織（UTALS）<sup>\*4</sup>が形成されることを見出しています。この UTALS の発達には、尿路の上皮バリア機能の低下によって惹起される“上皮下組織への尿の滲出”が関与し、本来皮膚の上皮細胞を基底膜に繋ぎ留める COL17A1 が尿路上皮の細胞に異所性に発現することを報告しましたが、その意義や他の動物との共通性は不明でした。

本研究ではまず、尿路の閉塞を起こしたネコとヒトの尿管を調べ、その尿路上皮で COL17A1 の発現が増えることを発見しました。次に、人為的に尿管を閉塞させたマウスを調べ、尿路が閉塞した際の COL17A1 の役割を解析しました。その結果、COL17A1 は病態の進行に伴い尿路上皮で発現を増やし、さらには腎臓の障害を反映する間接的な病態マーカーになることが分かりました。また、本グループは腎盤内の上皮が特に壊れやすい部位を同定し、そこから COL17A1 の発現誘導が始まること、さらに COL17A1 は尿路上皮の修復及び局所の炎症誘導に関与することを明らかにしました。今後のさらなる研究の進展により、COL17A1 はネコなどの伴侶動物やヒトの泌尿器病態の診断及び治療法の新たなターゲット分子になることが期待されます。

なお、本研究成果は、2024 年 5 月 18 日（土）公開の The American journal of Pathology 誌に掲載されました。



尿路の閉塞によって尿路上皮バリアは破綻し、COL17A1 の発現とともにその再構築が始まる。

## 【背景】

腎臓は体内の不要な老廃物を尿として体外に排出し体液のバランスを一定に調整する、生命維持に必須の臓器です。加齢や免疫機能の異常、尿路の閉塞などにより腎臓が障害されると、その機能は破綻し、慢性腎臓病を発症します。その年間死者数は全世界で 120 万人にのぼり、ネコやイヌなどの動物においても腎臓病は死亡原因の上位を占めています。つまり、腎臓病はヒトと動物、両者に共通の病気で、早期診断及び治療法の確立が求められています。

研究グループは、腎臓病の形成メカニズムとして“尿路上皮バリアの破綻”に着目しています。尿は腎臓で血液からつくられた後、それに続く腎盤、尿管、膀胱、尿道を通して体外に排泄されます。このとき、この尿の通り道（尿路）は上皮細胞の層によって内張りされ、尿は体内に戻ることはありませんと考えられてきました。しかし研究グループは、免疫の変化、加齢や腎臓病によってこの尿路上皮バリアが破綻し、その下層へ尿が滲出すること、その際、腎盤の上皮下に免疫を担うリンパ組織がつくられることを報告しました。この異所性のリンパ組織を尿路関連リンパ組織（UTALS）と命名し、UTALS の形成には 17 型コラーゲン  $\alpha 1$  鎖（COL17A1）が関わることを見出してきました。

この COL17A1 は一般的なコラーゲンとは異なり、皮膚の上皮細胞を基底膜（細胞の足場となる膜）へと繋ぎ留める役割が知られていますが、尿路での機能は知られていません。そこで、COL17A1 の役割を明らかにするため、ヒトと動物の閉塞性尿路疾患<sup>\*5</sup>に着目しました。尿路閉塞は結石や腫瘍に起因し、水腎症など重篤な腎障害につながりますが、ネコでもよく起こることが知られています。今回、尿路結石症に罹患したネコとヒトの尿管を用い、COL17A1 の発現を調べました。また、人為的に尿管を閉塞させたマウスを用いて、COL17A1 の機能を詳しく解析しました。

## 【研究手法】

尿路結石症に罹患したネコとヒトの尿管組織について、免疫染色<sup>\*6</sup>または *in situ* ハイブリダイゼーション法<sup>\*7</sup>により、COL17A1 を発現している細胞を調べました。次に、尿路が閉塞した際の COL17A1 の機能を精査するため、C57BL/6N マウスに片側尿管結紮（UUO）<sup>\*8</sup>を施しました。手術後 1、4、7 日目で腎臓の病理を評価し、免疫染色で腎盤と尿管に発現する COL17A1 を定量しました。さらに、病態時に免疫細胞がどのような動態を示すか調べるため、マウス由来の免疫細胞培養系を尿や COL17A1 で刺激し、遺伝子発現の変化をマイクロアレイ解析<sup>\*9</sup>と定量 PCR で解析しました。さらに、尿路上皮障害時の COL17A1 の機能を詳細に調べるため、COL17A1 をもたない *Col17a1* ノックアウトマウスに UUO を施し、上皮及び免疫反応の変化を検証しました。

## 【研究成果】

健常な尿管組織と比べて、尿路結石症に罹患したネコやヒトの検体では、尿路上皮細胞で COL17A1 の発現が顕著に増加していました。UUO を施したマウスでも同様に、足場となる基底膜側の尿路上皮細胞で COL17A1 がみられ、COL17A1 はヒトと動物に共通して、尿路が障害されたときに発現が増える蛋白質であることが分かりました（図 1）。また、UUO を施したマウスでは COL17A1 を発現する細胞数が手術後の日数とともに増加し、さらに腎臓の病理指標と正に相関することから、COL17A1 は間接的な腎障害マーカーになることが示唆されました。さらに、COL17A1 が高発現する部位では、細胞同士を接着させ、物理的なバリアをつくっている蛋白質の発現が低下しました。また、COL17A1 は尿管よりも先に腎盤に発現がみられ、特に尿路を収縮させる平滑筋が存在しない部位（腎臓側）と存在する部位（尿管側）の境界部で強く発現し、これは上皮細胞の脱落とともに起こることが分かりました。このとき、蛍光色素を腎盤に注入すると上皮下層へと色素

が滲出する像が観察されました（図 2）。すなわち、尿路閉塞によって尿路上皮バリアが壊れると、尿は体内である上皮下層へと戻る可能性が示されました。

この滲出した尿が体内の免疫反応を惹起すると考え、培養したマウスの免疫細胞系にマウスの尿を添加すると、炎症時につくられるケモカイン群、特に *Cxcl2* 遺伝子の発現が増加しました。研究グループは以前に COL17A1 が免疫反応を誘導することを見出しており、今回、複数の免疫細胞を COL17A1 で刺激したところ、CD11b 発現細胞で *Cxcl2* 遺伝子の発現量が上昇し、免疫染色でも、破綻した尿路上皮の下層に CXCL2 と CD11b を発現する細胞、すなわち炎症を起こす CXCL2 をつくる免疫細胞が多く観察されました（図 3）。また、*Col17a1* ノックアウトマウスは通常のマウスに比べ、UUO に対して免疫細胞の応答が弱く、尿路上皮細胞の増殖も乏しかったため、COL17A1 はこれらに関与することが示唆されました。以上より、ネコ、ヒト、マウスで尿路が障害されると、COL17A1 は共通して尿路上皮に発現し、そのバリアの再構築と局所の炎症に関与することが示されました。

【今後への期待】

ヒトとヒト以外の動物は感染症だけでなく、がんや心臓病、腎臓病など、様々な病気に共通して罹患します。それらの疾患に対し、生物種の垣根を越えて病気のメカニズムや新たな診断・治療法を包摂的に考える学問を“汎動物学 Zoobiquity”と呼びます。今回、尿路上皮での COL17A1 は、ヒトやネコが尿路閉塞を罹患した際、尿路上皮の再構築と免疫の活性化という共通した機能を持っている可能性が示されました。コラーゲンは現在 28 種類報告され、生物の体を支える役割や、細胞間のコミュニケーションを担うと考えられていますが、その中で COL17A1 は尿路上皮の維持や免疫活性化など、複数の機能を持つことが本研究により明らかになりました。さらに解析を進めることで、ヒトと動物の泌尿器疾患に対する早期診断及び治療法の確立に繋がることが期待されます。

【謝辞】

本研究は JSPS 科研費 JP20J22559、JP19K22352、JP21H04751 の助成を受けたものです。また、ネコ尿管検体の提供に尽力してくださった小山田和央先生（松原動物病院）、水川葉月先生（愛媛大学）、横山 望先生（北海道大学）に心より御礼申し上げます。

論文情報

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 論文名   | Collagen 17A1 in the urothelium regulates epithelial cell integrity and local immunological responses in obstructive uropathy（閉塞性尿路疾患において 17 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖は尿路上皮の完全性と免疫学的反応性を制御する）                                                                          |
| 著者名   | 難波貴志 <sup>1</sup> （研究当時）、市居 修 <sup>2、4</sup> 、夏賀 健 <sup>3</sup> 、中村鉄平 <sup>2</sup> 、大谷祐紀 <sup>4</sup> 、昆 泰寛 <sup>2</sup> （研究当時）<br>（ <sup>1</sup> 北海道大学大学院獣医学院、 <sup>2</sup> 北海道大学大学院獣医学研究院、 <sup>3</sup> 北海道大学大学院医学研究院、 <sup>4</sup> 北海道大学 One Health リサーチセンター） |
| 雑誌名   | The American Journal of Pathology（病理学の専門誌）                                                                                                                                                                                                                       |
| D O I | <a href="https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2024.04.009">https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2024.04.009</a>                                                                                                                                                          |
| 公表日   | 2024 年 5 月 18 日（土）（オンライン公開）                                                                                                                                                                                                                                      |

## お問い合わせ先

北海道大学大学院獣医学研究院 教授 市居 修 (いちいおさむ)

T E L 011-706-5187 F A X 011-706-5188 メール ichi-o@vetmed.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.vetmed.hokudai.ac.jp/research/detail/anatomy/>

## 配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

## 【参考図】

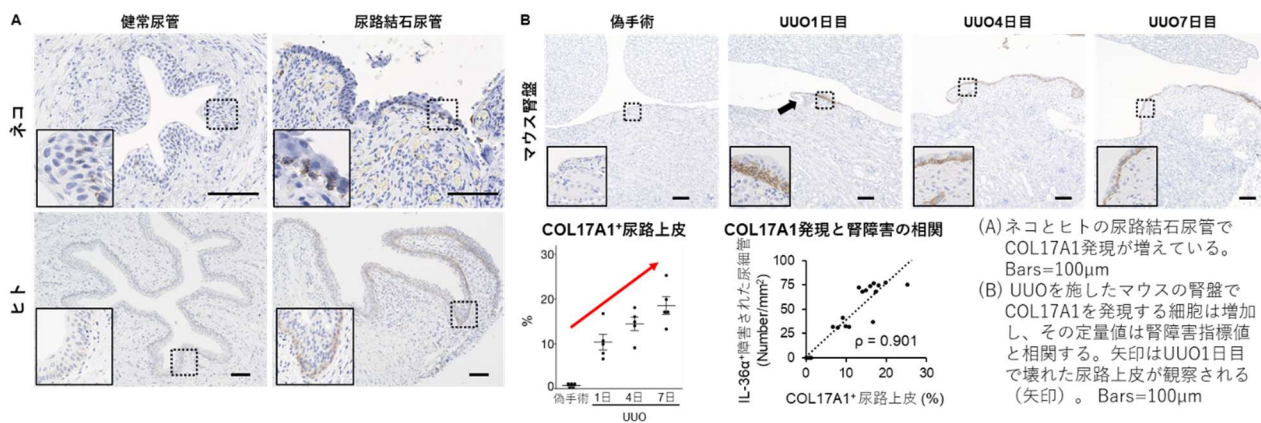


図 1. ヒト、ネコ、マウスの尿路上皮では、その障害時に COL17A1 が異所性に発現した。



図 2. 蛍光色素を腎臓の内腔に投与すると、尿路上皮バリアの破綻部位から上皮下層に色素が滲出した。

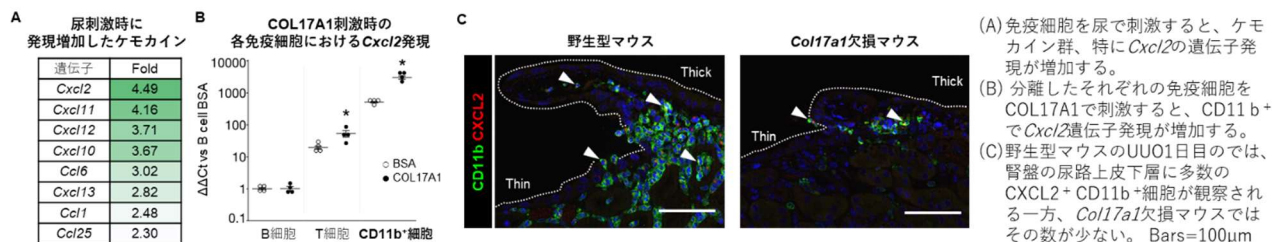


図 3. 尿と COL17A1 は免疫細胞からのケモカイン産生を誘導した。

## 【用語解説】

\*1 尿路上皮 … 尿路(腎臓、尿管、膀胱、尿道の一部)の上皮バリアを担う。移行上皮とも呼ばれる。

\*2 17 型コラーゲン (COL17A1) … 半接着斑の形態機能を維持する細胞接着分子の一つであり、

皮膚では角化細胞の増殖・分化に関連する。COL17A1 に対する自己抗体は水疱性類天疱瘡（bullous pemphigoid：BP）の原因となり、COL17A1 は BP180 とも呼ばれる。

- \* 3 腎盤 … 腎臓で生成された尿を受ける盃状の構造であり、尿路の始まりとなる。腎盂とも呼ばれる。
- \* 4 尿路関連リンパ組織（UTALS） … 加齢、自己免疫異常や組織への尿滲出が刺激となって尿路に形成される誘導性の三次リンパ組織を指す。T 細胞、B 細胞、マクロファージ、線維芽細胞などを含む。
- \* 5 閉塞性尿路疾患 … 腫瘍や結石などにより、尿路のいずれかが部分または完全閉塞する。ネコでは結石による尿管閉塞例が多くみられ、慢性腎臓病の発症との関連性が示唆されている。
- \* 6 免疫染色 … 組織切片を用いて、目的の抗原に対する抗体を使用し、その局在を可視化する。
- \* 7 *in situ* ハイブリダイゼーション … 組織切片を用いて、目的の mRNA の局在を可視化する。
- \* 8 片側尿管結紮（UUO） … 片側の尿管を糸などで結紮して人為的に尿路閉塞や水腎症を誘導する。
- \* 9 マイクロアレイ解析 … 各サンプル間の網羅的な遺伝子発現を比較する手法である。