

【目的】慢性腎臓病（CKD）は多くの場合腎機能の低下を伴い、持続する炎症と進展性の線維化を特徴とする。CKD 進展の詳細なメカニズムは不明であり、現在の治療戦略は血圧管理など非特異的なものがほとんどである。スフィンゴ脂質代謝産物であるスフィンゴシン 1-リン酸（S1P）は、スフィンゴシンキナーゼ（SphK1、SphK2）の働きにより、細胞内でスフィンゴシンから合成され、細胞外へ輸送された後、細胞膜上に存在する G 蛋白質共役型受容体である S1P1-S1P5 のリガンドとして働き、細胞の接着・遊走・増殖など様々な応答を引き起こす。著者の留学先（前所属先）を含む複数の研究室が、これまで全身の *Sphk2* ノックアウトや SphK2 阻害剤投与が CKD 進展（線維化）を抑制することを動物実験で報告してきたが、その詳細なメカニズムは不明であった。そこで著者は、腎臓の線維化進展に重要な役割を果たす perivascular cells（pericytes/fibroblasts）の SphK2 が CKD 進展に寄与する、という仮説を立て、以下の予備実験結果を得た。(1) 腎臓の perivascular cells では S1P は主に SphK2 によって産生され、未知のトランスポーターによって細胞外へ輸送される。(2) 細胞外の S1P は perivascular cells 自身の S1P1 に結合し、これが腎障害時の perivascular cells 内の炎症性シグナリングを増強させ、炎症性サイトカイン・ケモカインの産生を増加させ、免疫細胞浸潤とそれに続く線維化を促進する。これらを背景に、本研究では、腎臓の perivascular cells に発現する未知の S1P トランスポーターを同定し、その阻害が腎臓の炎症及び線維化を軽減するかを検証することを目的とする。

【方法】腎臓 perivascular cells に発現する S1P トランスポーターとして、内皮細胞ではすでに報告されている Spns2 を候補として検討を行った。細胞実験ではマウス腎臓から単離した primary kidney perivascular cells を用いた。動物実験では、perivascular cell 特異的 Cre マウスとして Foxd1Cre マウスを用い、Spns2 flox マウスと掛け合わせることで、perivascular cell 特異的 Spns2 ノックアウトマウスを作製し実験に供した。CKD（腎線維化）モデルとしては、片側腎虚血再灌流モデル（Day 0：左腎虚血再灌流、Day 13：右腎摘、Day 14：採材）を用いた。また臨床応用を見据え、共同研究者と開発した新規 Spns2 阻害剤である SLF1081851 の効果も細胞・動物実験において検証した。

【結果】マウス primary kidney perivascular cells において Spns2 をノックダウンすると、培地中に含まれる S1P 濃度が低下した。この結果は Spns2 が腎臓 perivascular cells において S1P トランスポーターとして働いていることを示唆する。さらに Spns2 のノックダウンは、LPS で刺激した際の炎症性サイトカイン・ケモカインの発現を低下させた。動物実験では、perivascular cell 特異的 Spns2 ノックアウトマウスでは腎線維化が軽減しており、上記細胞実験結果と合致する所見であった。さらに新規開発した Spns2 阻害剤である SLF1081851 を用いた実験を行い、細胞実験では炎症性サイトカイン・ケモカイン発現の低下、動物実験では腎線維化の軽減、という結果を得た。これらの結果は、新規 CKD 治療薬としての Spns2 阻害剤の有用性を示すものである。

腎臓 perivascular cell における SphK2/Spns2/S1P1 シグナリングは炎症・線維化を促進する

