

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等実用化研究事業

慢性腎臓病の進行を促進する薬剤等による腎障害の
早期診断法と治療法の開発

総括研究報告書

成田 一 衛

新潟大学大学院医歯学総合研究科 腎・膠原病内科学

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等実用化研究事業
総括研究報告書
「慢性腎臓病の進行を促進する薬剤等による腎障害の
早期診断法と治療法の開発」

研究代表者

成田一衛 新潟大学医歯学総合研究科 腎・膠原病内科学

研究分担者

和田隆志 金沢大学医薬保健研究域医学系 血液情報統御学
山縣邦弘 筑波大学医学医療系臨床医学域 腎臓内科学
横山 仁 金沢医科大学医学部 腎臓内科学
寺田典生 高知大学医学部 内分泌代謝・腎臓内科学
斎藤亮彦 新潟大学医歯学総合研究科 機能分子医学寄附講座
各務 博 新潟大学医歯学総合研究科 呼吸器・感染症内科学
田邊嘉也 新潟大学医歯学総合病院 感染管理部

研究協力者

河野恵美子 新潟大学医歯学総合研究科 腎・膠原病内科学
坂井宣彦 金沢大学医薬保健研究域医学系 血液情報統御学
臼井丈一 筑波大学医学医療系臨床医学域 腎臓内科学
鶴岡秀一 日本医科大学医学研究科 腎臓内科学

研究要旨

薬剤の多くは腎排泄性であり、合併症を有する CKD 患者に対して、安全で有効な治療を提供できないことが多い。全入院患者の 1%前後が薬剤性腎障害であり、その半数以上が直接型腎障害、35%程度は不可逆性腎障害であるとの調査結果がある。潜在的な薬剤性腎障害による既存の CKD の進行と腎不全の発生も多いが、正確な実態、対策のターゲットは不明である。

本研究は薬剤性腎障害について、正確な実態を明らかにし、発症機序による再定義を行い、それぞれの早期診断マーカーを同定し臨床的な有用性を検証する。薬剤性腎障害の新規ガイドラインを策定し公表する。基礎研究を併行し、薬剤性腎障害の病態機序の解明と治療実験を行うことを目的として、平成 25 年度に開始された。

高知大学医学部附属病院における入院患者30年間約8万人で、AKIの発症頻度は13.11%であり、高齢者で頻度が高かった。一方、日本腎臓学会が運営する腎臓病レジストリーを利用した調査で、腎生検症例に占める薬剤性腎障害の頻度を明らかにした。また実際に、金沢大学、新潟大学の腎生検例を対象に、薬剤性腎障害の頻度、被疑薬、病理・臨床像を検討した。

CKD患者におけるAKIのリスク予測には、尿中IL-18、L-FABP測定を合わせると感度・特異度がともに上昇していた。また、尿中メガリン測定も早期診断に有用であった。

ラット近位尿細管障害モデルで、ALA (5-Aminolevulinic acid) の AKI の腎保護作用を報告した。今後臨床試験を行う。

数種の腎毒性薬剤がメガリンと結合し、腎臓に取り込まれる経路を明らかにした。ま

た、メガリンとの結合を拮抗する化合物が薬剤性腎障害の治療に応用できる可能性を明らかにした。特許出願中である。

今後、腎機能障害時の薬剤投与方法、腎毒性薬剤による中毒性腎障害、薬剤アレルギーにより惹起される急性間質性腎炎の各病態の実態について調査をすすめ、ガイドラインの改訂に貢献する。

A. 研究目的

【目的・必要性】

わが国の成人8人に1人が慢性腎臓病(CKD)であり、人口高齢化に伴って今後さらに増加する。CKDを有する症例は、心血管疾患の高リスク群であることは良く知られているが、多くの悪性腫瘍、炎症性疾患、感染症などのあらゆる疾患も、一般人口と同様か、それ以上の頻度、発症する。

それらの疾患の治療に使用される多くの薬剤は、腎排泄性あるいは腎障害性であり、腎機能に応じた投与量や投与間隔の調節、時には中止が必要である。大多数のCKD患者は、腎障害に加えて、複数の併発症、合併症を持つことが多いにもかかわらず、必ずしも十分な治療が行われないことが多い。特に、抗菌薬や抗腫瘍薬は、薬効を得るために十分量を投与することが必要であるが、CKD患者ではそれが困難である。しかも、CKD症例で薬剤性腎障害が腎不全への進行を早めることは、腎不全の原疾患として統計の表面上に顕れてはこないが、日常臨床、高頻度に経験される。

したがって、薬剤性腎障害をより早期に診断し、適切な予防・治療を行うことは、CKDの進行を抑制し腎不全の発生を減らすという観点で重要であり、また多様な合併症を有する多くのCKD患者に有効かつ安全な医療を提供するために、重要喫緊の課題の一つである。

【特色・独創性】

平成21～23年度に行われた厚生労働科学研究腎疾患対策事業「CKDの早期発見、予防、治療標準化、進展阻止に関する調査研究」(今井圓裕代表)では、課題の一つとして、「高齢者における薬物性腎障害に関する研究」が行われた。この調査によれば、腎臓専門医の常駐施設での全入院患者のうち、0.94%が薬剤性腎障害による入院であり、36.5%が非可逆性であったと報告されている。この数字は主要診断に基づくものであり、CKD増悪因子としての潜在的薬剤性腎障害は、実際にはさらに多いものと推定される。これらの原因としては、非ステロイド系抗炎症薬(25.1%)、抗腫瘍薬(18.0%)、抗菌薬(17.5%)の順で多く、また半数以上(54.6%)が直接型腎障害であった。本研究では、近年構築された日本腎臓学会のレジストリーを通して、現時点での全国的な実態を調査する点が特徴的である。また同時に、腎生検標本のデータを基に、過去の薬剤性腎障害についても調査する。

一方、現在まで積極的に薬剤性腎障害の早期診断・予防や治療の手段を目的とした研究はない。近年の研究から、薬剤性腎障害のうちの多くが、新たに同定されたトランスポーター分子群(Organic anion transporter (OAT), Organic cation transporter (OCT))やエンドサイトーシス受容体メガリンなどにより尿細管細胞に取りこまれた薬剤分子が直接あるいは間接的に細胞障害を起こすことが原因であることが分かってきた。

さらに、それらの尿細管分子などを抑制する手段は、一部すでに知られているものもあるが、十分に利用されていない。同様の機序を持つ薬剤として、新たな候補化合物も存在する。

本研究では、感染症、腫瘍内科、基礎研究者を含む関連領域横断的な研究チームを構成し、直接型薬剤性腎障害の克服を目指す点が独創的である。

また、そのための臨床的な実態を明らかにし、薬剤性腎障害に対する施策上の重点的な標的を明確にする。さらに、薬剤性腎障害を分子メカニズムに基づいて体系的に再定義し、その早期診断法と対策を確立し、広く日常臨床で利用できる薬剤性腎障害診療ガイドラインを作成する。

薬剤性腎障害の早期マーカーを同定し、臨床応用することにより、早期での診断を可能とする。

B. 研究方法

各分担研究報告書に詳述する。概要は以下の7項目に示す通りである。

【早期診断マーカー】

CKD患者のAKIリスクを推定するバイオマーカーとして、IL-18、L-FABPなどの有用性を検討するため、薬剤投与前から経過とともに血液・尿検体を採取し、血清クレアチニンの上昇以前に尿中排泄が上昇するものを探索した。

【臨床的疫学研究】

高知大学病院における入院患者調査で、AKIの発症頻度、年齢との関連を解析する。また、そのリスク因子を詳細に解析した(寺田)。

日本腎臓学会が運営する腎臓病レジストリーを利用して、薬剤性腎障害の発生について全国調査を経年的に実施した。正確な

発生頻度と危険因子、予後(腎機能および生命)と、現行で行われている治療法を把握した(横山)。

【臨床的および病理学的検討】

過去約30年の金沢大学附属病院における薬剤性腎障害の腎生検例の特徴を明らかにした。一方、本邦における急速に進む高齢化社会を考慮すると、疾病構造や使用薬剤などが大きく変化していることが示唆された。

【抗腫瘍薬の危険因子】

シスプラチン(CDDP)腎症発症の危険因子をretrospectiveに検討する。脂質異常症、冠動脈疾患が、CDDPによるAKI発症予測因子となりうるかどうか。CKD危険因子の数とAKIの頻度、脂質異常症、高血圧、糖尿病が、CDDPによるAKI発症のリスクに関連するかどうかを解析した。

【抗腫瘍薬の腎毒性】

ミトコンドリア障害による近位尿細管障害(ラットによる実験)に対するALA(5-Aminolevulinic acid)のAKI保護作用について、実験的研究を行った。

【ガイドライン】

これまでわが国で発刊された、腎機能障害患者に対する薬剤投与法のガイドライン、腎毒性薬剤や腎排泄性薬剤による中毒性腎障害についてのガイドライン、急性間質性腎炎(薬剤によるアレルギーにより惹起される腎障害)の治療法を統合した、腎臓病における薬剤投与についての総合的なガイドラインの作成が必要であることが確認された。

【腎障害機序の解明と治療法の探索】

水晶振動子マイクロバランス法(QCM)、腎特異的メガリンKOマウスを用いて、メガリンに結合する腎毒性薬剤の腎障害機序の確認を行った。さらに、より優れたメ

ガリン拮抗薬の開発を目指して、候補化合物のスクリーニングを行った。

【倫理面への配慮】

分担研究者が、それぞれの課題毎に、当該研究機関で必要な倫理上の手続き（倫理委員会への申請、承認）、臨床治験委員会（IRB）への申請・承認を得る。基礎研究において動物実験を行う場合は、動物の愛護及び管理に関する法律（昭和48年法律第105号。以下「動物愛護法」という。）、実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準（平成18年環境省告示第88号。以下「飼養保管基準」という。）、各研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針及び動物実験の適正な実施に向けたガイドラインに基づき必要な倫理上の手続き（倫理委員会への申請、承認）を経て施行した。

C. 研究結果

【早期診断マーカー（寺田、各務、斎藤）】

CKD患者のAKIリスクについて、IL-18とL-FABPを合わせると感度、特異度が上昇する事を見いだした。また、CDDP腎症において尿中メガリン測定が有用である可能性を明らかにした。

【臨床的疫学研究（寺田、横山）】高知大学病院における8万人の調査で、AKIの発症頻度は13.11%であり、60歳以上では14%以上を占めることが分かった。今後はそのリスク因子をさらに詳細に解析する（寺田）。

日本腎臓学会が運営する腎臓病レジストリーを利用して、薬剤性腎障害の発生について全国調査を経年的に実施する。

【臨床的および病理学的検討（成田、和田、山縣）】平成25年度の調査で、過去約30年の金沢大学附属病院における薬剤性腎障害の腎生検例の特徴が明らかとなった。

金沢大学において腎生検5220例中、薬剤性腎障害は25例(0.48%)。ブシラミン腎症は11例であった。最近ビスフォスフォネート製剤など、被疑薬が変化してきていることが分かった。

【抗腫瘍薬の危険因子（各務）】CDDP腎症発症の危険因子をretrospectiveに検討した。脂質異常症、冠動脈疾患が、CDDPによるAKI発症予測因子となりうる。CKD危険因子の数とAKIの頻度、脂質異常症、高血圧、糖尿病と、CDDPによるAKI発症のリスクに関連を認めた。

【抗腫瘍薬の腎毒性に関する第一相臨床試験（寺田、各務）】ミトコンドリア障害による近位尿細管障害（ラットによる実験）ALA（5-Aminolevulinic acid）のAKIの保護作用について研究を発表した(PLOS ONE 8:e80850, 2013)。ALA投与でCDDP腎症におけるBUN、Crの上昇が抑えられ、CDDPによる腎障害は、ALAによるミトコンドリアの回復で改善することがわかった。この実験で使用した鉄剤は、ヒトに換算するとフェロミア2錠程度であり、生理的な投与量である。培養細胞において、ALAに加えて鉄の投与下で腎保護作用が高いことが分かった。

【ガイドライン（山縣、成田）】これまでわが国で発刊された、腎機能障害患者に対する薬剤投与法のガイドライン、腎毒性薬剤や腎排泄性薬剤による中毒性腎障害についてのガイドライン、急性間質性腎炎（薬剤によるアレルギーにより惹起される腎障害）の治療法を統合した、腎臓病における薬剤投与についての総合的なガイドラインの作成をめざす。

【腎障害機序の解明と治療法の探索（斎藤、田辺、各務）】QCMにより、メガリンがCDDP、コリスチン、バンコマイシンなどの腎毒性薬剤と結合することが明らかとなった。また、腎特異的メガリンKOマウスを用いて、メガ

リンに結合する腎毒性薬剤の腎障害機序の確認を行った。さらに、より優れたメガリン拮抗薬の開発を目指して、候補化合物の検討を行った。

D. 考察

本研究で、日本腎臓学会レジストリーのデータから薬剤性腎障害の病理所見の実態について明らかにされた。特に急性尿細管間質性腎炎と、急性尿細管壊死、慢性間質性腎炎が多く、糸球体病変は30%未満であったことは、やや予想外であった。一方、金沢大学等の単独施設での過去30年の腎生検では、ブシラミン腎症による膜性腎症が多く、被疑薬が変化し、それに伴い病理組織像も変化してきた可能性が高いと考えられた。

今後は頻度の高い原因薬剤について、アンケートによる全国調査を行い、正確な発生頻度と危険因子、予後(腎機能および生命)と、現行で行われている治療法を把握する必要がある。また、研究分担者らの施設での詳細な臨床像と病理組織像の検討を共同で進める。

薬剤性腎障害のバイオマーカーとして、IL-18とL-FABPの組み合わせが有用である可能性が示されたが、今後は更に症例数を重ねて検討する必要がある。また、抗腫瘍薬、抗菌薬を使用する際の前向き臨床観察研究を行う。薬剤投与前から経過とともに血液・尿検体を採取し、血清クレアチニンの上昇以前に尿中排泄が上昇するものをマーカーとして、その有用性を検討する。メガリン、OCT、OAT、NAG、2-ミクログロブリン、NGAL、L-FABP、IL-18、KIM-1等の早期診断マーカーとしての有用性を検証することも意義のあることと考えている。

ALAの腎保護効果について、ヒトでの有用性を検証する必要がある。平成26年度は倫理委員会の承認を経て臨床応用に向けて準備を整える。

E. 結論

日本腎臓学会のレジストリーで登録されている薬剤性腎障害の主な病理組織所見は、急性尿細管間質障害、急性尿細管壊死、慢性間質性腎炎であった。一方、過去の症例では、ブシラミン腎症などの糸球体障害が多く、時代とともに被疑薬と組織所見が変遷している可能性が示唆された。

急性薬剤性腎障害の発症前リスク評価方法、早期診断のバイオマーカー候補が同定された。今後それぞれの有用性を確認する必要がある。

薬剤による尿細管障害を抑制する手段として、ミトコンドリア障害を抑制する薬剤(ALA)、および細胞毒性のある薬剤の尿細管細胞への取り込みをブロックする薬剤(シラスタチンなど)が、有効である可能性が示された。今後は臨床試験を開始する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Wakasugi M, Kazama JJ, Narita I, et al. (15名中15番目) Association of warfarin use and incidence of ischemic stroke in Japanese hemodialysis patients with chronic sustained atrial fibrillation: A prospective cohort study. *Clin Exp Nephrol* 2014. in press.
2. Tsuchida Y, Kaneko Y, Otsuka T, Goto K, Saito A, Yamamoto K, Yamamoto T, Narita I. Upregulation of prolactin receptor in proximal tubular cells was induced in cardiac dysfunction model mice. *Clin Exp Nephrol* 2014; **18**: 65-74.
3. Tasaki M, Saito K, Nakagawa Y, Ikeda M, Imai N, Narita I, Takahashi K. Effect of donor-recipient age difference on long-term graft survival in living kidney transplantation. *Intern Urol Nephrol* 2014. in press
4. Kondo M, Yamagata K, Hoshi SL, Saito C,

- Asahi K, Moriyama T, Tsuruya K, Konta T, Fujimoto S, Narita I, Kimura K, Iseki K, Watanabe T. Budget impact analysis of chronic kidney disease mass screening test in Japan. *Clin Exp Nephrol* 2014. in press
5. Kobayashi T, Okada M, Ito S, Kobayashi D, Ishida K, Kojima A, Narita I, Murasawa A, Yoshie H. Assessment of interleukin-6 receptor inhibition therapy on periodontal condition in patients with rheumatoid arthritis and chronic periodontitis. *J Periodontol* 2014; **85**: 57-67.
 6. Kazama JJ, Yamamoto S, Wakasugi M, Narita I. A hip fracture in a dialysis patient with Abeta2M amyloidosis. *Kidney Int* 2014; **85**: 214-5.
 7. Wakasugi M, Kazama JJ, Yamamoto S, Kawamura K, Narita I. A combination of healthy lifestyle factors is associated with a decreased incidence of chronic kidney disease: a population-based cohort study. *Hypertens Res* 2013; **36**: 328-33.
 8. Wakasugi M, Kazama JJ, Yamamoto S, Kawamura K, Narita I. Cause-specific excess mortality among dialysis patients: comparison with the general population in Japan. *Ther Apher Dial* 2013; **17**: 298-304.
 9. Wakasugi M, Kazama JJ, Taniguchi M, Wada A, Iseki K, Tsubakihara Y, Narita I. Increased risk of hip fracture among Japanese hemodialysis patients. *J Bone Miner Metab* 2013; **31**: 315-21.
 10. Terao C, Yoshifuji H, Kimura A, Matsumura T, Ohmura K, Takahashi M, Shimizu M, Kawaguchi T, Chen Z, Naruse TK, Sato-Otsubo A, Ebana Y, Maejima Y, Kinoshita H, Murakami K, Kawabata D, Wada Y, Narita I, Tazaki J, Kawaguchi Y, Yamanaka H, Yurugi K, Miura Y, Maekawa T, Ogawa S, Komuro I, Nagai R, Yamada R, Tabara Y, Isobe M, Mimori T, Matsuda F. Two Susceptibility Loci to Takayasu Arteritis Reveal a Synergistic Role of the IL12B and HLA-B Regions in a Japanese Population. *Am J Hum Genet* 2013. **93**: 289-97.
 11. Saeki T, Kawano M, Mizushima I, Yamamoto M, Wada Y, Nakashima H, Homma N, Tsubata Y, Takahashi H, Ito T, Yamazaki H, Saito T, Narita I. The clinical course of patients with IgG4-related kidney disease. *Kidney Int* 2013; **84**: 826-33.
 12. Maruyama H, Takata T, Tsubata Y, Tazawa R, Goto K, Tohyama J, Narita I, Yoshioka H, Ishii S. Screening of male dialysis patients for fabry disease by plasma globotriaosylsphingosine. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013; **8**: 629-36.
 13. Kuroda T, Tanabe N, Sato H, Nakatsue T, Wada Y, Murakami S, Nakano M, Narita I. Distribution of amyloid deposits in the kidneys of a patient with reactive amyloidosis associated with rheumatoid arthritis. *BMC research notes* 2013; **6**: 231.
 14. Koshio J, Kagamu H, Nozaki K, Saida Y, Tanaka T, Shoji S, Igarashi N, Miura S, Okajima M, Watanabe S, Yoshizawa H, Narita I. DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 3, X-linked is an immunogenic target of cancer stem cells. *Cancer Immunol Immunother* 2013; **62**: 1619-28.
 15. Wada Y, Kojima M, Yoshita K, Yamazaki M, Kobayashi D, Murakami S, Nishi S, Nakano M, Narita I. A case of Epstein-Barr virus-related lymphadenopathy mimicking the clinical features of IgG4-related disease. *Mod Rheumatol* 2013; **23**: 597-603.
- ## 2 . 学会発表
1. 成田 一衛： IgA 腎症感受性の責任遺伝子、第 56 回日本腎臓学会学術総会、大会長主導企画、2013 年 5 月 12 日、東京
 2. 後藤 眞、細道 一善、塚口 裕康、渡

- 辺 博文、井ノ上 逸朗、成田 一衛：家族内集積を示す腎疾患のエクソーム解析、第 56 回日本腎臓学会学術総会、ワークショップ、2013 年 5 月 12 日、東京
3. 土田 陽平、金子 佳賢、大塚 忠司、後藤 慧、斎藤 亮彦、山本 格、成田 一衛：心不全モデルマウスにおける近位尿細管プロラクチン受容体の発現増加、第 56 回日本腎臓学会学術総会、2013 年 5 月 12 日、東京
 4. 保川 亮太、細島 康宏、保坂 聖子、矢田 雄介、青木 弘行、桑原 頌治、成田 一衛、黒澤 寛之、平山 吉朗、斎藤 亮彦：虚血・再還流モデルマウス腎におけるメガリン切断の検討、第 56 回日本腎臓学会学術総会、2013 年 5 月 10 日、東京
 5. 細島 康宏、蒲津 秀門、笹川 泰司、鈴木 哲世、青木 弘行、金子 麗華、桑原 頌治、鈴木 芳樹、成田 一衛、斎藤 亮彦：高脂肪食負荷モデルの腎障害機序におけるメガリンの役割、第 56 回日本腎臓学会学術総会、2013 年 5 月 10 日、東京
 6. 相馬 彩子、高崎 麻美、高橋 雄一、高橋 彩、金子 博司、福住 好恭、富田 雅之、成田 一衛、河内 裕：糸球体上皮細胞障害モデルにおける Calcineurin の発現の解析、第 56 回日本腎臓学会学術総会、2013 年 5 月 10 日、東京
 7. 樋渡 昭、萩原 正大、臼井 丈一、永井 恵、甲斐 平康、森戸 直記、楊景堯、斎藤 知栄、細島 康宏、原 正則、斎藤 亮彦、山縣 邦弘：腎産生タンパク質の尿中排泄量を基にした腎機能推測法の検討、第 56 回日本腎臓学会学術総会、2013 年 5 月 10 日、東京
 8. Kamei K, Suzuki K, Ichikawa K, Konta T, Fujimoto S, Iseki K, Moriyama T, Yamagata K, Tsuruya K, Kimura K, Narita I, Asahi K, Watanabe T: The Association between Serum Uric Acid and Change of Renal Function in a Community-Based Population: A Longitudinal Survey of a Nationwide Cohort in Japan, American Society of Nephrology Kidney Week 2013, 2013/11/5, Atlanta, USA
 9. Muto S, Mochizuki T, Tsuchiya K, Nishio S, Hanaoka K, Kamura K, Tsuruya K, Ishimura E, Narita I, Kamura K, Ubara Y, Ando M, Nutahara K, Horie S: The Compiling Data at the Time of Enrollment in J-PKD Registry, American Society of Nephrology Kidney Week 2013, 2013/11/5, Atlanta, USA
 10. Yamamoto S, Omori K, Matsuo K, Kawamura K, Wakasugi M, Maruyama H, Kazama JJ, Narita I: Oral Activated Charcoal Adsorbent, AST-120, Induced Continuous Reduction of Protein-Bound Uremic Toxins in Maintenance Hemodialysis Patients: A Randomized Cross-Over Trial, American Society of Nephrology Kidney Week 2013, 2013/11/5, Atlanta, USA
 11. Kono E, Kazama JJ, Hosojima M, Narita I, : The Formation Process of “White Kidney” in a Patient with Late Onset Primary Hyperoxaluria Type I, American Society of Nephrology Kidney Week 2013, 2013/11/5, Atlanta, USA
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許出願
斎藤亮彦、青木信将、堀 好寿、桑原頌治、細島康宏、岩田博司、松田砂織：「メガリンリガンド拮抗薬」特願 2014-011530 (平成 26 年 1 月 24 日)
 3. 実用新案登録
なし
 4. その他
なし