

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）
分担研究報告書

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

研究課題：尿細管障害の機序の解明と治療法の基礎的検討

研究分担者 齋藤亮彦

新潟大学・機能分子医学講座・教授

研究要旨：

メガリンは近位尿細管上皮細胞(PTEC)の管腔側に発現し、糸球体を濾過する様々な物質の再吸収を司るエンドサイトーシス受容体である。本研究は、メガリンがコリスチン、シスプラチン、バンコマイシンの腎毒性機序に関わるかについて検討するとともに、メガリン拮抗薬を用いてそれらによる腎毒性を予防する新たな治療法の開発を行うことである。本研究において、メガリンとコリスチン、シスプラチン、バンコマイシンが直接結合することを、水晶振動子マイクロバランス法を用いて明らかにした。メガリン拮抗薬候補 X についても、メガリンとの直接的な結合を見いだすとともに、コリスチン、シスプラチン、バンコマイシンのメガリン結合を阻害することを明らかにした。2) 腎特異的モザイク型メガリンノックアウトマウスを用いて、コリスチンの腎毒性がメガリン依存性であることを見いだした。3) 野生型マウスにおいて、コリスチンによる腎毒性は、メガリン拮抗薬 X の同時投与により軽減されることを明らかにした。4) メガリン拮抗薬 X はコリスチンの抗菌活性を抑制しなかった。以上により、メガリン拮抗薬 X は薬剤性腎障害の有望な予防薬となる可能性がある。今後は尿中メガリン測定を含め PMDA 相談を行う準備を進める。

A．研究目的

メガリンは近位尿細管上皮細胞(PTEC)の管腔側に存在し、糸球体を濾過する様々な物質の再吸収を司るエンドサイトーシス受容体である。メガリンは以前よりアミノグリコシドなどの腎毒性薬剤の PTEC への取り込みに関わることが明らかにされていた。本研究では、メガリンがその他の薬物(コリスチン、シスプラチン、バンコマイシンなど)の腎毒性に関わるかについて検討するとともに、メガリン拮抗薬を用いてそれらによる腎毒性を予防する新たな治療法の開発を目指す。

B．研究方法

特に、多剤耐性緑膿菌感染症に対する特效薬であるが、その腎毒性が問題となっているコリスチンについて、メガリンとの直接結合の有無を、水晶振動子マイクロバランス法を用いて解析した。さらに腎特異的モザイク型メガリンノックアウトマウス(約 60%の PTEC でメガリンがノックアウト)を用いて、コリ

スチンによる腎毒性のメガリン依存性を検討した。また、メガリン拮抗候補薬を用いて、コリスチンのメガリン結合を阻害できるか、さらに野生型マウスにおいて、コリスチンによる腎毒性を軽減できるか、について検討した。さらに、臨床的に腎毒性が問題となっている他の薬物(バンコマイシン、シスプラチンなど)についても同様の検討を行った。また、メガリン拮抗候補薬がコリスチンの抗菌活性を阻害しないことを確認するため、大腸菌を培養したプレート上の増殖阻止円の検討を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験については、新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得た。

C．研究結果

1) 水晶振動子マイクロバランス法を用いて、メガリンと腎毒性薬物(コリスチン、シスプラチン、バンコマイシン)が直接結合することを見いだした。メガリン拮抗薬候補 X

についても、メガリンとの直接的な結合を見いだすとともに、コリスチン、シスプラチン、バンコマイシンのメガリン結合を阻害することを明らかにした。

2) 腎特異的モザイク型メガリンノックアウトマウスにコリスチンを投与すると、メガリン発現性 PTEC において、細胞質内の空胞変性所見が認められるとともに KIM-1 (腎傷害マーカー) が発現するが、メガリンがノックアウトされた PTEC においては KIM-1 が発現しないことを見いだした。

3) 野生型マウスにコリスチンを投与することによって生ずる腎傷害は、メガリン拮抗薬 X の同時投与により軽減されることを病理学および生化学的 (KIM-1 発現の抑制) に明らかにした。

4) メガリン拮抗薬 X はコリスチンの大腸菌に対する抗菌活性を抑制しなかった。

D . 考察

コリスチンはメガリンに直接結合し、PTEC に取り込まれることによって、メガリン依存性に腎毒性を惹起する可能性が高い。メガリン拮抗薬 X はコリスチンのメガリン結合を阻害することにより、その腎毒性を軽減する可能性がある。さらにメガリン拮抗薬 X はコリスチンの抗菌活性を抑制しないことから、臨床的に有効な予防薬になる可能性がある。さらにメガリン拮抗薬 X はシスプラチン、バンコマイシンのメガリン結合も阻害することから、それらの薬剤による腎毒性を軽減させる効果が期待されるので、コリスチンと同様の解析を進める予定である。

メガリン拮抗薬については、国内特許出願に続いて、味の素製薬と PCT 出願を行った。

また本研究事業において、私たちは、尿中メガリン (A-megalin) はシスプラチン腎症の発症予測因子となることを明らかにした。このことから、尿中メガリン測定は、薬剤性腎障害のメガリン拮抗薬による予防治療に対するコンパニオン診断に応用される可能性が高い。今後、PMDA の対面相談を経て、AMED に申請し、国内臨床試験を進める方向で調整する。

E . 結論

メガリン拮抗薬 X はコリスチンの腎毒性に対する予防薬になる可能性がある。さらにメガリン拮抗薬 X はシスプラチン、バンコマイシンの腎毒性を予防することも期待される。

F . 研究発表

1. 論文発表
なし。

2. 学会発表

第 44 回 日本腎臓学会東部学術大会
2014.10.24-25

齋藤亮彦：薬剤性腎障害とメガリン

G . 知的財産権の出願・登録状況

発明者：齋藤亮彦、青木信将、堀好寿、桑原頌治、細島康宏、岩田博司、松田砂織

発明の名称：メガリン拮抗剤

共同権利者：新潟大学、味の素株式会社

出願日：2015年1月22日

出願番号：PCT/JP2015/51718