

令和元年5月31日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09259

研究課題名(和文) 漢方治療による腎機能改善メカニズムの解明と臨床応用

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of renal dysfunction improvement by Kampo treatment

研究代表者

新井 信 (ARAI, Makoto)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：30222722

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病(CKD)に対する黄耆の薬効を急性腎障害(AKI)改善と予想し検討した。C57BL/6マウスの若年群(10週齢)と老齢群(52週齢)を用い、シスプラチンAKIモデルを作成したところ、老齢群ではシスプラチン感受性が高く、低濃度シスプラチン投与(14 mg/kg)でも血清CRE・BUN上昇、尿細管上皮細胞障害や糸球体病変が観察できた。黄耆投与の老齢群では(50 mg/kg/day, 30 days)、シスプラチンAKIの所見は認められなくなった。一方、若齢群では低濃度シスプラチンではAKIは発症しなかった。以上のことから、黄耆はAKIを抑制することでCKDを防止する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国はすでに超高齢化社会を迎え、高騰する国民医療費を抑制するために慢性腎疾患(CKD)患者の透析導入遅延は喫緊の課題となっている。本来は進行したCKDの治療だけでなく、発症の予防とともに、発病初期のうちに正常に回復させることが重要であるが、西洋医学にはその進行を抑える有効な薬剤は見当たらない。本研究の成果として、漢方生薬として古来用いられてきた黄耆の腎機能改善作用に着目し、そのメカニズムの一部を解明した。黄耆は日本薬局方に収載された保険適用がある生薬で、臨床ではCKD患者の医療費抑制やQOL向上が期待できるため、本研究成果により、今後は西洋医学治療の中に積極的に応用されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We examined an effect of Astragalus membranaceus (AM) against chronic kidney disease (CKD). Here we focused on acute kidney injury (AKI) as a promoting factor for CKD.

Generally, 20 mg/kg cisplatin is used for AKI experimental model. In this situation, cisplatin-AKI is generated also in young mice (10 weeks old) as well as in old mice (52 weeks old), but few AM effects could find both groups. In reduced dose (14 mg/kg) of cisplatin treatment, we found significant increases of serum BUN or CRE and histological damages in renal tubule epithelial cells and glomeruluses especially in old mice. However, the old mice treated with Astragalus in advance could almost prevent these pathological changes. On the other hand, young mice showed no particular pathological finding, indicating AM could only prevent moderate cisplatin-AKI in old mice. However, this evidence suggests the possibility that AM improves daily generated minor problems such as moderate AKI that is promoting CKD.

研究分野：漢方医学

キーワード：黄耆 急性腎障害 マウス 血清尿素窒素 血清クレアチニン シスプラチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会の到来を踏まえ、近代西洋医学に東洋医学を取り込む「新たな医療」の新展開に向け、慢性腎疾患の過程で漢方治療の適応を考えた。その本質は、健康な高齢者を増加させるためには、整容医学による慢性腎疾患の治療ばかりでなく、東洋医学により発病に至る過程で様々な危険因子を未然に防ぎ、腎臓の寿命を延長させることを考えた。最近の知見では、慢性腎障害(CKD)の原因として急性腎障害(AKI)が注目されている。いままでは一過性に完治すると思われていた AKI は、腎臓に障害を残し、その長期にわたる積み重ねが CKD の発症プロセスの大きな一因と考えられるようになった。そこで本研究では、慢性腎疾患の発症過程での AKI 防止のために、漢方治療の臨床応用を展開させることを考えた。漢方薬による急性症状改善に結びつく分子メカニズムを解明し、そのメカニズムに呼応するバイオマーカーを同定し、その動態を血液・唾液・尿などの試料から解析し、患者自覚症状に依存しない客観的観点に依存した漢方治療の確立をめざす。

2. 研究の目的

(1) 慢性腎臓病(CKD)治療における黄耆による改善効果の検討

黄耆は、漢方医学において補剤として様々な組織でその薬効が認められている生薬である。既に黄耆による慢性腎臓病(CKD)の薬効が報告されており、黄耆が慢性腎障害患者の血中クレアチニンを低下させる可能性が示唆されている。しかしその薬効はまちまちであり、確固たる分子メカニズムも明らかではない。

(2) AKI による CKD 進行モデルと黄耆の薬効との関連性

最近、慢性腎臓病(CKD)の発症原因として急性腎障害(AKI)についての知見が報告され、AKIにより健常な腎臓がCKDに移行することが示唆されている。我々はCKDに対する黄耆の薬効を考える上でCDK増悪因子であるAKIが黄耆の標的ではないかという仮説を立てた。

(3) CKD に対する黄耆の薬効として AKI 改善を予想し、黄耆投与によりマウスを用いた実験的 AKI モデルでどのような改善効果が得られるかを検討する。実験には汎用されている腎動脈虚血再還流による AKI マウスモデルまたはシスプラチン AKI マウスモデルを用いて黄耆の薬効について検討する。

(4) 既に臨床領域では、非小細胞性肺癌へのシスプラチンによる抗癌剤治療において、黄耆を含む漢方製剤の併用により患者生存率や治療効果が上昇し、副作用が軽減されるというメタ・アナリシスが報告されている (McCulloch, M. *et al.*, J Clin Oncol. 24(3): 419-430, 2006)。従って、シスプラチン AKI に黄耆が薬効を発揮する可能性が期待できる。

3. 研究の方法

概要を Figure 1 に示した。

(1) 実験には近交系マウス系統である C57BL/6 の 10 週齢(若齢)と 52 週齢(老齢)マウスを用い、事前に黄耆末を混入させた飼料を投与した(50 mg/kg/day, 30 days)。通常の飼料で飼育したマウスを対照群とした。

(2) シスプラチン AKI モデルでは、0.5 mg/ml シスプラチン生食水溶液をマウスの腹腔内に 20 mg/kg(通常投与)または 14 mg/kg(軽減投与)のふたつの条件で投与して作製した。シスプラチンを投与して 3 日後に血清調製し、また片側腎臓を摘出し 10%ホルマリン固定した。

(3) 血清クレアチニン濃度 (CRE) や尿素窒素濃度 (BUN) を検討するとともに、腎臓のパラフィン切片を作成してヘマトキシリン-エオジン染色またはPAS染色により病理組織学的な解析を行った。

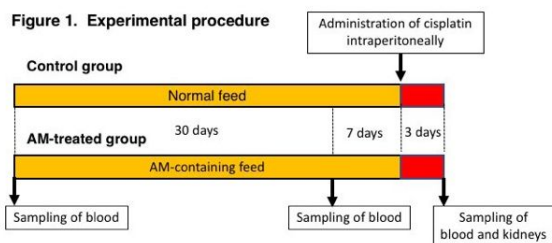


Table 1. Cisplatin effects in young and aged mice

Cisplatin dose	10 weeks old	52 weeks old
20 mg/kg (normally used dose)	Alive (AKI)	Almost lethal
14 mg/kg (reduction dose)	Alive (almost healthy)	Alive (AKI)

Table 2. Summary of AM effects in aged mice (52 weeks old)

AM-treatment	Cisplatin dose	Serum CRE & BUN	Kidney pathology
none (control)	none	normal	none
none	14 mg/kg	increase	detected
administration	14 mg/kg	nothing particular	slightly detected

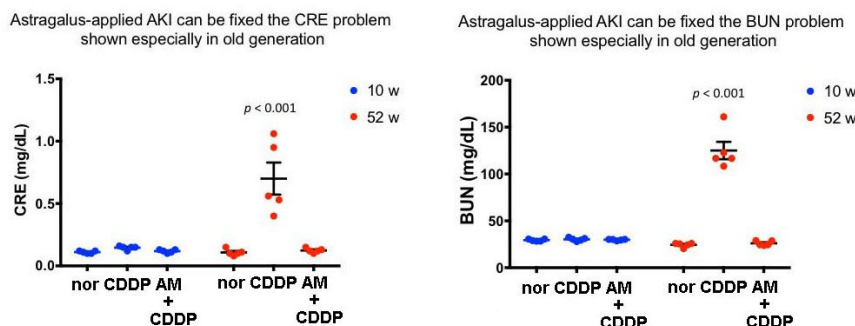
Table 3. Summary of AM effects in 10 weeks old mice

AM-treatment	Cisplatin dose	Serum CRE & BUN	Kidney pathology
none	20 mg/kg	increase	detected
administration	20 mg/kg	increase (no effect)	detected (no effect)
none	14 mg/kg	none	none
administration	14 mg/kg	none	none

4. 研究成果

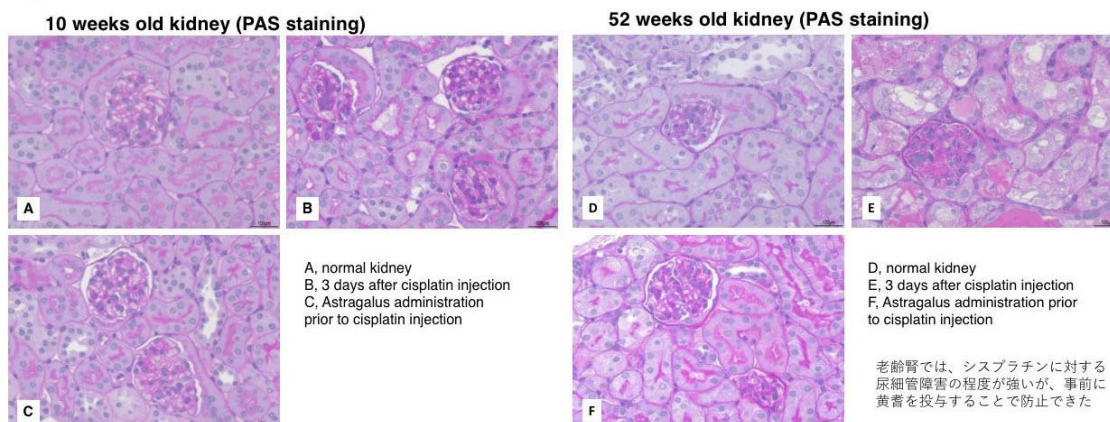
一般に AKI モデルとして汎用されている方法を用いると、20 mg/kg シスプラチンを投与した若齢マウス (10 週齢) では、典型的な AKI モデルが作製され、血清 CRE・BUN の上昇を示し、組織学的にも尿細管上皮細胞障害や糸球体の変化が認められた (Table 1)。一方老齢マウスでは、Table 1 に示すように、20 mg/kg シスプラチンを投与すると 3 日以内に半数以上が致死に至った (10 匹中 8 匹致死)。この 20 mg/kg の条件で、予め老齢マウスに黄耆を投与したところ、生存するマウスの割合が多くなった (10 匹中 5 匹致死)。またシスプラチン投与で上昇した血清 CRE・BUN も改善するものも認められたが、統計学的に有意差はなかった。病理組織学的解析では若齢・老齢とも明らかな AKI 症状の軽減または消失を示す所見は認められなかった。以上の結果から、黄耆の薬効は、老齢マウスで認められたシスプラチン AKI の感受性上昇を抑制する可能性が考えられ、老齢に依存して高くなるシスプラチン感受性を調節する役割が予想された。次に我々は、マウスへのシスプラチン投与量を 14 mg/kg に減少させて実験をすすめた。この条件下では、若齢マウスでは AKI は発症しなかったが、老齢マウスでは全てが生存でき、それらの腎臓では AKI が発症していた (Table 1, 2 and 3)。予め老齢マウスに黄耆を投与し、その後 14 mg/kg シスプラチンを投与したところ、シスプラチン AKI の発症が明らかに軽減していた。血清 CRE・BUN 検査では有意に上昇が抑えられ (Figure 2)、また腎臓の病理学的所見では AKI 症状がほとんど認められず、明らかな AKI 回避がみられた (Figure 3)。今回のマウス個体を用いた研究で、特に老齢マウスにおいて、黄耆はシスプラチン AKI による腎機能障害を防止する知見が得られ、少なくとも CKD へ移行する腎臓組織の寿命延長に何らかの役割を果たす黄耆の可能性が考えられた。

Figure 2



以上の結果から、CKD 発症に対する黄耆の薬効のひとつとして年齢依存的に高まる AKI 感受性を未然に抑制する役割が考えられ、AKI による CKD 病状進行を抑制し、健全な腎機能を少しでも長く維持させるために黄耆の薬効が果たす可能性が伺える。

Figure 3



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kagemasa Kajiwara, Makoto Arai, Yoshinobu Nakada, Takaaki Kinoue: Administration of *Astragalus membranaceus* prevented kidney dysfunction in older mice following renal ischemia-reperfusion. Int Med J (in press), 査読有

〔学会発表〕(計 7 件)

梶原景正、新井信: シスプラチン AKI モデルマウスを用いた黄耆の薬理効果の検討。(第 70 回日本東洋医学会学術総会, 2019.06.30, 東京・京王プラザホテル) 日本東洋医学雑誌 70 Suppl.2019

Kagemasa Kajiwara, Makoto Arai, Yoshinobu Nakada, Takaaki Kinoue: Administration of *Astragalus Membranaceus* prevented kidney dysfunction in mice Cisplatin-AKI mice (The 56th ERA-EDTA, 2019.06.13-16 06.14, HUNGEXPO, Budapest, Hungary) http://www.era-edta2019.org/Final_Programme.pdf

梶原景正、新井信: シスプラチンによる AKI モデルマウスに対する黄耆の薬理効果。(第 28 日本東洋医学会関東甲信越支部神奈川県部会学術大会, 2018.10.28, 横浜・神奈川県総合医療会館) 第 28 回神奈川県部会講演要旨集 9-10

Kagemasa Kajiwara, Makoto Arai, Yoshinobu Nakada, Takaaki Kinoue: Administration of *Astragalus Membranaceus* prevented kidney dysfunction in mice and in patients with chronic kidney disease (55th ERA-EDTA, 2018.05.24-27 05.26, Bella Center, Copenhagen, Denmark) http://www.era-edta2018.org/Final_Programme.pdf

梶原景正、中田佳延、新井信: 急性腎障害モデルマウスを用いた黄耆の薬効解析。(第 27 日本東洋医学会関東甲信越支部神奈川県部会学術大会, 2017.11.05, 横浜・神奈川県総合医療会館) 第 27 回神奈川県部会講演要旨集

梶原景正、新井信: マウス実験モデルを用いたオウギの腎機能改善効果の検討。(第 68 回日本東洋医学会学術総会, 2017.06.03, 名古屋・名古屋国際会議場) 日本東洋医学雑誌 68 Suppl.2017: 297

梶原景正、新井信: ダイオウ投与によりマウス腎臓で発現する Na⁺-H⁺ exchanger の機能解析。(第 67 回日本東洋医学会学術総会, 2016.06.03-05, 高松・かがわ国際会議場) 日本東洋医学雑誌 67(別冊): 270

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://kampo.med.u-tokai.ac.jp>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：梶原 景正
ローマ字氏名：KAJIWARA, Kagemasa
所属研究機関名：東海大学
部局名：医学部
職名：講師
研究者番号（8桁）：00204397

研究分担者氏名：中田 佳延
ローマ字氏名：NAKADA, Yoshinobu
所属研究機関名：東海大学
部局名：医学部
職名：准教授
研究者番号（8桁）：40594578

研究分担者氏名：木村 穰
ローマ字氏名：KIMURA, Minoru
所属研究機関名：東海大学
部局名：総合医学研究所
職名：特任教授
研究者番号（8桁）：10146706

研究分担者氏名：石井 直明
ローマ字氏名：ISHII, Naoaki
所属研究機関名：東海大学
部局名：健康学部
職名：教授
研究者番号（8桁）：60096196

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。