

令和元年6月19日現在

機関番号：32659

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08414

研究課題名(和文) 腎移植における免疫抑制療法への導入を目的としたビタミンK2の薬効解析

研究課題名(英文) Immunopharmacological-efficacy analysis of vitamin K2 for the purpose of introduction for immunosuppressive therapy in renal transplantation.

研究代表者

杉山 健太郎 (Sugiyama, Kentaro)

東京薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：50574745

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)： ビタミンK2(VK2)は、透析患者と健常者の末梢血単核細胞(PBMC)のT細胞マイトゲン応答性増殖を有意に抑制した。この効果は、患者と健常者のPBMCに対して同等に得られた。VK2は活性化PBMCのサイトカイン生成能に大きく影響を与えなかったが、透析患者PBMCに限り制御性T細胞率を濃度依存的に抑制した。腎移植では、ステロイドを含む多剤併用免疫抑制薬物療法が行なわれる。VK2の作用は、透析患者、健常者のPBMCに対し共に個人差が少ないが、ステロイド薬のPBMC抑制作用には個人差が大きい。そこで本研究では、VK2と他の免疫抑制薬の併用を模した薬効評価方法を開発し、これを確立させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎移植における免疫抑制療法は、過剰免疫抑制による日和見感染症やステロイド性の骨粗鬆症等の副作用も散見される。VK2は、透析患者と健常者のいずれのPBMCに対しても増殖抑制効果を示した。その薬効には個人差が少なく、両群のPBMCに対し同等な薬効が得られた。VK2は骨粗鬆症に適応を持ち副作用が少ない。そのため従来の免疫抑制療法にVK2を加えた薬物療法は、免疫抑制薬の減量による副作用軽減とステロイド性骨粗鬆症の軽減に大きく寄与出来ると考えられる。さらに、VK2と他の免疫抑制薬の併用を模した薬効評価系を確立することにより、VK2を併用した腎移植免疫抑制薬物療法の個別化に大きく貢献するものと思われた。

研究成果の概要(英文)： Vitamin K2 significantly inhibited proliferation of concanavarin A-stimulated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) derived from dialysis patients and healthy subjects. The vitamin K2 potencies were similar in these subjects. VK2 did not largely change the amounts of cytokines produced from activated PBMCs of both dialysis patients and healthy subjects. Percentage of regulatory T cells in PBMCs of dialysis patients, but not of healthy subjects, decreased by VK2 treatment.

Renal transplant recipients are received combination immunosuppressive therapy with steroids. Deviation in the VK2 pharmacological efficacies was small in PBMCs of both healthy subjects and dialysis patients. However, the steroid potencies on the activated PBMCs deviated largely. Therefore, we also developed and evaluated the PBMC suppressive efficacy of VK2 combined with other immunosuppressive drugs, aiming the application of this strategy to a new combination immunosuppressive therapy.

研究分野：医歯薬学

キーワード：腎移植患者 ビタミンK2 適応外使用

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景

腎移植後は、拒絶反応予防のためにカルシニューリン阻害薬や副腎皮質ステロイド薬等の併用による免疫抑制療法が開始される。免疫抑制薬に対する患者リンパ球の感受性試験(感受性試験)やATP定量試験等の結果に基づく個別化医療の推進は、拒絶反応発症率の減少に貢献した。平野らは、慢性腎不全患者に対してプレドニゾロン感受性を測定した結果、プレドニゾロン低感受性群は、高感受性群に比べ拒絶反応の発生率が有意に高いことを報告した(Hirano T et al. Transplantation 1994)。申請者は、タクロリムス低感受性群が高感受性群に比べ、拒絶反応発生率が有意に高いことを示した(Sugiyama K et al. Cell Transplantation 2012)。また申請者は、ATP定量試験により、サイトメガロウイルス感染症の発生率とATP定量値に関連があることを見出した(Sugiyama K et al. Exp Clin Transplant 2014)。これらの知見から、感受性試験やATP定量などによる個別化医療が普及、定着し、腎移植における拒絶反応や感染症の予防が可能となってきた。

副腎皮質ステロイド薬の使用は、高頻度に骨粗鬆症等の副作用が発生する。そのためステロイド薬の副作用回避は、移植医療の大きな課題となっている。申請者は、腎移植における免疫抑制療法に起因した副作用を未然に予防する方法を模索してきた。その結果、副作用の頻度が極めて少なく、未知の生理活性作用を多彩に持つビタミンK(VK)類が、適応外使用として腎移植への臨床応用が可能であると推察した。本教室に所属する畑中らは、VK3やVK5がリンパ球増殖を抑制し、また強力なサイトカイン産生抑制作用を有することを明らかにした(Hatanaka H et al. Life Sci 2014)。しかしながらVK3やVK5には医薬品としての適応がなく、臨床応用もされていない。そこで申請者は、既に医薬品として適応があり、臨床応用可能なVK1とVK2に着目した。申請者は、既に健常者のPBMCに対するVK1とVK2の薬効について次のような興味ある予備的知見を得ている。

健常者末梢血単核細胞(PBMC)のT細胞マイトゲン応答性増殖に対し、VK1(フィトナジオン)は促進作用を示したが、一方VK2(メナテトレノン)は用量依存的にこれを抑制した(図1)。

T細胞マイトゲンで刺激した健常者PBMCからのIL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-17、TNF- α 、およびINF- γ 産生に対し、VK1は有意な影響を及ぼさないが、VK2は、唯一IL-4産生を有意に増加させた(図2)。

VK2は、T細胞マイトゲンで刺激した健常者PBMC中の制御性T細胞(T-reg)率を濃度依存的に抑制するが、VK1にはその作用がなかった(図3)。

T細胞マイトゲンで刺激した健常者PBMCのMitogen-activated Protein Kinase(MAPK)活性に対するVK2の効果を検討し、同細胞の細胞内伝達経路におけるVK2の作用点について知見を得た。

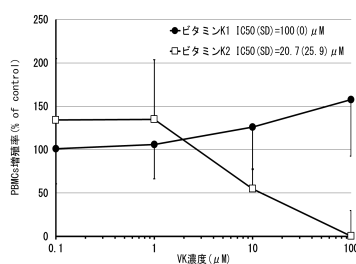


図1

健常者PBMCのマイトゲン応答性増殖に対するVK1とVK2の効果(健常者12例)

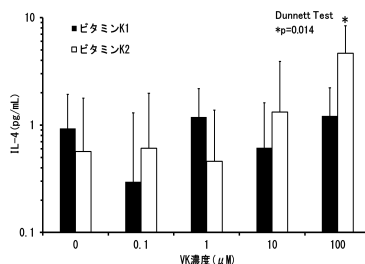


図2

健常者PBMCからのサイトカイン産生に対するVK1とVK2の効果(健常者6例)

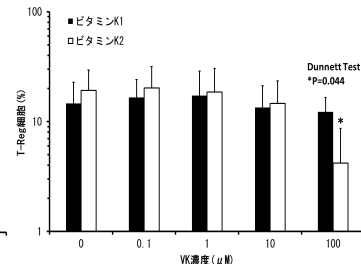


図3

健常者PBMC中のT-reg細胞率に対するVK1、VK2の抑制効果(健常者6例)

2. 研究の目的

ビタミンK類は様々な生理活性を持ち、一部は臨床で用いられているが、現在適応ではない作用についても臨床応用が期待される。申請者は、ビタミンK2が健常者の末梢血単核細胞増殖に対して抑制作用を示すことを、予備的知見により初めて確認している。本研究は、腎移植術の適応となる透析患者の末梢血単核細胞の増殖やサイトカイン産生能、および制御性T細胞率等に対するビタミンK2の効果を詳細に検討することを目的とする。ビタミンK2の免疫学的な薬効を評価することは、ビタミンK2の適応外使用として臨床応用に繋がり、またステロイドや免疫抑制薬の副作用である骨粗鬆症や日和見感染症等の発生を未然に防ぐことも可能になるとと思われる。

3. 研究の方法

VK2 は、骨粗鬆症に適応があるが、免疫抑制作用も併せ持つと思われる。本研究では、腎移植後に使用される免疫抑制薬の代替となる VK2 の臨床応用の可能性について、神奈川県警友会けいゆう病院の透析患者の慢性腎不全患者を対象に検討する。具体的には、透析患者の PBMC に対する VK2 の増殖抑制効果を検討すると共に、サイトカイン分泌量、制御性 T 細胞率、および MAPK 活性を測定する。本教室とけいゆう病院とは、2014 年から慢性腎不全患者リンパ球の ATP 定量試験を通じて共同研究を遂行中である。さらに本研究については、継続研究として既にけいゆう病院の倫理審査委員会から承認を受けており、本学でも承認を受けた。

4. 研究成果

ビタミン K2(VK2)は、透析患者と健常者の末梢血単核細胞 (PBMC)の T 細胞マイトゲン応答性増殖を有意に抑制した。この効果は、患者と健常者の PBMC に対して同等に得られた。VK2 は活性化 PBMC のサイトカイン生成能に大きく影響を与えなかったが、透析患者 PBMC に限り制御性 T 細胞率を濃度依存的に抑制した。腎移植では、ステロイドを含む多剤併用免疫抑制薬物療法が行なわれる。VK2 の作用は、透析患者、健常者の PBMC に対し共に個人差が少ないが、ステロイド薬の PBMC 抑制作用には個人差が大きい。そこで本研究では、VK2 と他の免疫抑制薬の併用を模した薬効評価方法を開発し、これを確立させた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kusano J, Tanaka S, Matsuda H, Hara Y, Fujii Y, Suzuki S, Sekiyama M, Ando E, Sugiyama K, Hirano T.

Vitamin K1 and K2 immunopharmacological effects on the peripheral lymphocytes of healthy subjects and dialysis patients, as estimated by the lymphocyte immunosuppressant sensitivity test.

J Clin Pharm Ther. 43(6) 895-902. 2018

〔学会発表〕(計 6 件)

活性化ヒト末梢血単核細胞増殖に対するビタミン K2 の抑制作用の機序およびビタミン K2 とブレドニゾロンの併用効果について

依田彩花、孟科含、杉山健太郎、平野俊彦

第 97 回免疫アレルギー研究会 2018 年 6 月 26 日

Cellular pharmacodynamics of immunosuppressive drugs and vitamin K derivatives in renal transplant recipients and patients with immune diseases. [招待有り]

Sugiyama K, Meng K, Wen-Cheng Xu, Yuan Bo, Hirano T

The Second Academic Annual Conference of Specialty Committee of Hematology of World Federation of Chinese Medicine Societies 2017 年 10 月 13 日

腎移植の免疫抑制療法導入を目的としたビタミン K 類の薬効解析

杉山健太郎、草野淳一、安藤栄輝、原義和、松田洋人、平野俊彦

第 50 回日本臨床腎移植学会 2017 年 2 月 15 日

腎移植における免疫抑制療法への導入を展望としたビタミン K 類の薬効解析

杉山健太郎、草野淳一、山口美紀、佐口佳穂、嶋村幸佑、井上仁、松田洋人、原義和、藤井芳明、鈴木信也、関山正夫、安藤栄輝、田中祥子、平野俊彦

第 26 回日本医療薬学会年会 2016 年 9 月 17 日

腎移植における免疫抑制療法の導入を目的としたビタミン K 類の薬効解析

杉山健太郎、草野淳一、山口美紀、佐口佳穂、嶋村幸佑、井上仁、鈴木信也、関山正夫、安藤栄輝、原義和、松田洋人、田中祥子、平野俊彦

第 95 回免疫アレルギー研究会 2016 年 6 月 14 日

末梢血単核細胞に対するビタミン K 類の抑制作用について

杉山健太郎、山口美紀、佐口佳穂、嶋村幸佑、井上仁、田中祥子、平野俊彦

第 177 回東京医科大学医学会総会 2016 年 6 月 4 日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等:無

6. 研究組織

(1)研究分担者:無

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者：無

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。