

令和 2 年 4 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K20079

研究課題名（和文）敗血症性急性腎不全が慢性透析へ進行する病態でのCaチャネルの関与と予防療法の検討

研究課題名（英文）The role of Ca channels and KV1.3 channels in chronic renal failure and the development of preventive therapy against septic acute renal failure progressing to chronic hemodialysis

研究代表者

齊藤 和智 (Saito, Kazutomo)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：60770740

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：慢性腎不全において、炎症性細胞からのサイトカイン産生が腎線維化の進行に関与することが報告されている。免疫の主座である胸腺には、KV1.3チャネルが多数発現しているが、KV1.3チャネルが慢性腎不全の病態進行に寄与している可能性がある。本研究では、抗ヒスタミン薬がKV1.3チャネルを阻害することで免疫抑制作用を発揮することが明らかとなった。また、慢性腎不全の腎線維化には、KV1.3チャネルの過剰発現が関与し、病態の進行を促すことが考えられた。KV1.3チャネル阻害作用を持つ抗ヒスタミン薬が、慢性腎不全における抗線維化薬として有用となる可能性を秘めていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

第二世代抗ヒスタミン薬であるセチリジン、フェキソフェナジン、アゼラスチン、テルフェナジンなどがリンパ球のKV1.3チャネル電流を効果的に阻害したことから、これらの薬剤が慢性腎不全における腎線維化の治療に有用である可能性が示唆された。今後、腎線維化の病態生理の解明が更に進むとともに、既存の頻用薬がもつ“抗線維化”薬としての有用性・実用性が示され、透析導入や腎移植患者の減少に繋がることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In chronic renal failure, it has been reported that cytokine production from inflammatory cells is concerned in the progression of renal fibrosis. Many KV1.3 channels are expressed in the thymus, which is the main immunity reaction, and the KV1.3 channels may contribute to the progression of chronic renal failure. In this study, it was revealed that antihistamines exert an immunosuppressive effect by inhibiting the KV1.3 channel. In addition, it was considered that overexpression of KV1.3 channel is recognized in renal fibrosis induced by chronic renal failure, and KV1.3 channels could promote the progression of pathological conditions. It was suggested that antihistamines with KV1.3 channel inhibitory potential have potential to be useful as antifibrotic drugs in chronic renal failure.

研究分野：麻酔科学

キーワード：慢性腎不全 敗血症 KV1.3チャネル 免疫抑制作用

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

重症敗血症時には急性腎不全を発症することが多い。急性腎不全発症時の病態は、敗血症性ショック状態での循環状態の悪化(全身の低血圧・低還流)による腎臓低還流から、糸球体・尿細管細胞の虚血壊死を来すことが本態である。多くが敗血症の治癒とともに、腎機能も正常化するが、急性腎不全から慢性腎不全に移行する場合もあり、重度の慢性腎不全の場合は、人工透析が必要となる。欧米では人工透析導入は患者への費用負担が大きく富裕層以外はほぼ死亡する。本邦では透析導入は医療保険制度から可能であるが、国民医療費への負担は非常に大きく、慢性腎不全の重症化を予防することが非常に重要である。

急性腎不全から慢性腎不全への進行の詳細な病態解明には、敗血症性ショック後にリンパ球を中心とした炎症反応が腎臓間質でどのように生じているかの病態解明と、腎尿細管細胞におけるアポトーシスの病態解明が不可欠である。また、リンパ球浸潤と尿細管アポトーシスに多大な影響を与える Kv1.3 チャンネルや Ca チャンネルが病態へどのように関与しているか、この機序の解明も不可欠である。また、想定機序の関与が存在した場合に、Kv1.3 チャンネルや Ca チャンネルを遮断する薬物による治療を検討することで、臨床での薬物療法に即座に応用可能と考えられる。

### 2. 研究の目的

重症敗血症の死亡率が高くなる原因として、腎不全を併発しやすいことが挙げられる。腎機能の回復が認められず、急性腎不全から慢性腎不全に至る症例も少なくなく、このような症例に透析導入を行った場合の医療費への負担は甚大である。ラット敗血症モデルを用いて急性腎不全から慢性腎不全に移行する新たな病態の解明と、慢性腎不全に進行しない予防法と治療法の検討を行う。また、慢性腎不全期のまだ未知の部分の病態解析を行い、あわせて治療法の検討も行うことで臨床応用を可能にする。

### 3. 研究の方法

- (1) 本研究では、第二世代抗ヒスタミン薬(セチリジン、フェキソフェナジン、アゼラスチン、テルフェナジン)の免疫抑制作用について、ホールセル・パッチクランプ法を用いて、マウス由来胸腺細胞のリンパ球 Kv1.3 チャンネル電流に対する影響を比較検討することで、解明する。また、ホールセル・パッチクランプ法により電気的細胞膜容量を測定することで細胞膜の構造変化を観察し、加えて、透過型電子顕微鏡を用いて形態学的変化も観察することで、本薬剤の有する免疫抑制作用の機序についての考察も行う。
- (2) 本研究では、これまでの報告に倣って、慢性腎不全および末期腎不全ラットモデルを作成し、腎臓皮質領域におけるリンパ球やマクロファージの発現状態を調べ、慢性腎不全の組織学的特徴を確認する。加えて、慢性腎不全の腎線維化の進行におけるリンパ球 Kv1.3 チャンネルの発現状態を調べる。

#### 本研究の概略

研究1 45 5週齢 ddYマウス胸腺よりリンパ球を単離



#### パッチクランプ法

マウス胸腺由来リンパ球に対する1세대抗ヒスタミン薬の影響

#### 電子顕微鏡

1세대抗ヒスタミン薬が免疫抑制作用の機序に関する検討

研究2 6週齢雄性 Sprague-Dawleyラットより慢性腎不全モデルの作成



#### 組織学的検査

慢性腎不全におけるKv1.3チャンネルの生理的機能の検討

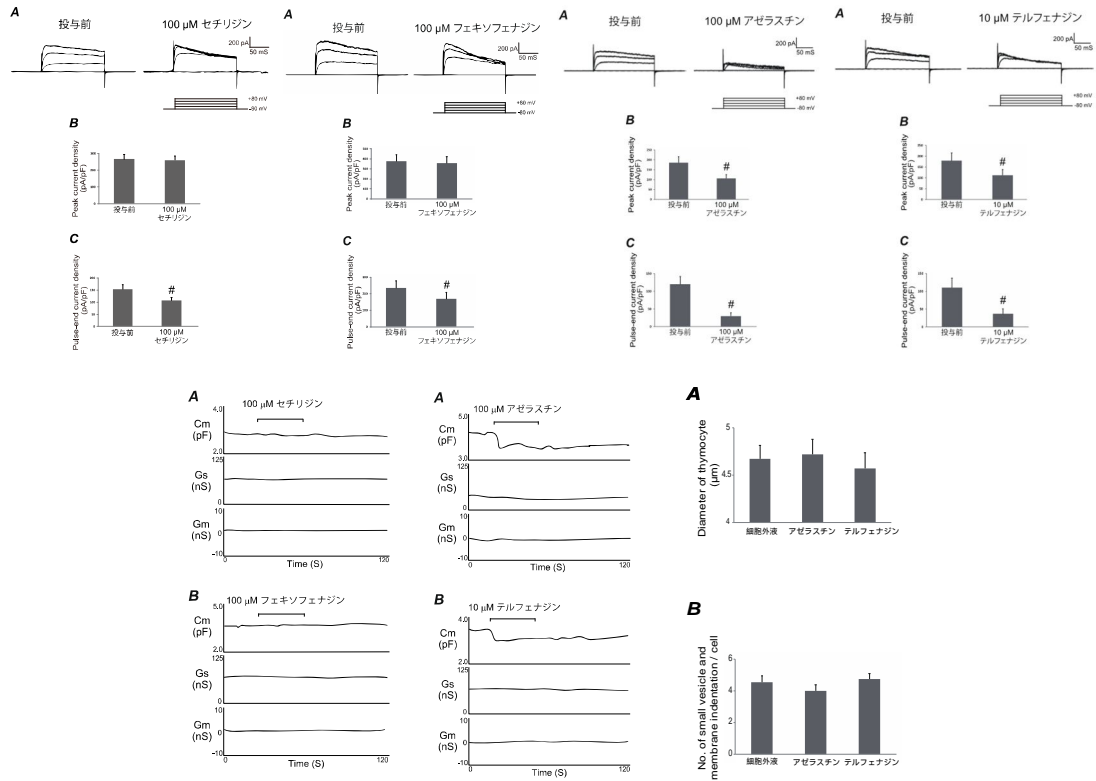


#### 機序的考察

1세대抗ヒスタミン薬のリンパ球を介した慢性腎不全治療薬としての有用性の検討

### 4. 研究成果

- (1) セチリジンとフェキソフェナジンは、ピーク電流には僅かに影響を与えたのみであったが、パルス終末電流を有意に抑制した。一方、アゼラスチンとテルフェナジンは、ピーク電流およびパルス終末電流を有意に抑制した。抗ヒスタミン薬が Kv1.3 チャンネル電流を有意に抑制したことから、細胞膜に対して、何らかの構造変化を与えている可能性があり、Cm の変化を観察した。セチリジンとフェキソフェナジンは Cm に変化を与えなかったが、アゼラスチンとテルフェナジンは Cm を有意に減少させた。さらに、電子顕微鏡を用いて、薬剤投与後の細胞膜の微細構造を観察すると、細胞の大きさやエンドサイトーシスの過程に影響を与えなかった。



(2) 5/6 腎摘除慢性腎不全モデルラットでは、腎臓皮質領域にリンパ球やマクロファージなどの炎症性細胞が数多く浸潤し、間質領域は浮腫と線維化で拡大していた。また、腎不全の進行とともに、浸潤したリンパ球の細胞膜上に  $K_v1.3$  チャンネルが過剰発現していた。

(3) 抗ヒスタミン薬はリンパ球  $K_v1.3$  チャンネルを阻害することで免疫抑制作用を発揮することが明らかとなった。特に、脂溶性の高いアゼラスチンとテルフェナジンは、脂質二重膜の膜間距離を増加させ、 $C_m$  を減少させる可能性が示唆された。慢性腎不全の腎線維化に  $K_v1.3$  チャンネルの過剰発現が関与し、病態の進行を促すことが考えられた。 $K_v1.3$  チャンネル阻害作用を持つ抗ヒスタミン薬が、慢性腎不全における抗線維化薬として有用となる可能性を秘めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kazutomo Saito, Nozomu Abe, Hiroaki Toyama, Yutaka Ejima, Masanori Yamauchi, Hajime Mushiake, and Itsuro Kazama	4. 巻 3
2. 論文標題 Second-Generation Histamine H1 Receptor Antagonists Suppress Delayed Rectifier K <sup>+</sup> -Channel Currents in Murine Thymocytes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 HindawiBioMed Research International	6. 最初と最後の頁 1,12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2019/6261951	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kazama I, Saito K, Baba A, Mori T, Abe N, Endo Y, Toyama H, Ejima Y, Matsubara M, Yamauchi M	4. 巻 61
2. 論文標題 Clarithromycin Dose-Dependently Stabilizes Rat Peritoneal Mast Cells.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 295,303
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000445023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nozomu Abe, Hiroaki Toyama, Kazutomo Saito, Yutaka Ejima, Itsuro Kazama, Masanori Yamauchi and Hajime Mushiake	4. 巻 7
2. 論文標題 Delayed Rectifier K <sup>+</sup> -Channel is a Novel Therapeutic Target for Interstitial Renal Fibrosis in Rats with Unilateral Ureteral Obstruction	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 HindawiBioMed Research International	6. 最初と最後の頁 1,11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2019/7567638	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----