

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08097

研究課題名(和文)自然発症の慢性腎不全猫へのAIM臨床投与と腎機能マーカーの確立

研究課題名(英文)Clinical administration of AIM and establishment of renal function markers in cats with spontaneous chronic renal failure

研究代表者

森 伸子 (Mori, Nobuko)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・客員研究員

研究者番号：10644536

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：腎臓病を自然発症した猫に対するAIMの臨床研究を実施した。初年度は、臨床試験の立ち上げとプレ臨床試験、2年目は、AIM濃度と最適な投与法の検証のための臨床試験、3年目は、腎臓病猫2群に対するAIMの用量の違いによる効果を検証を行った。これらの試験の結果から、AIMの効果と反応マーカーとして有望な項目が、より明確化され、数値の改善だけでなく、QOLの改善も見られ、食欲向上、活動性の復活などの報告も受けた。一方、AIMの投与によっても、変化が見られない猫や途中離脱を希望する場合もあり、さらなる投与方法や、AIM形状の改善なども併せて検討していく必要性を感じた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

有望なマーカーが明らかとなり、重要な基礎研究であったと思われる。また研究を開始してから、大変多くの飼い主や獣医療関係者からの問い合わせを受けた。いずれも、AIMの早い製薬化を待ち望む声であり、腎臓病薬としてのAIMが世間から求められていることを改めて痛感した。一方で、改善点も明確になった。AIMの製剤性状・保管方法については、検討する必要がある。また、投与方法のさらなる改善も重要である。そして、猫の腎臓病は、糸球体に障害を起こして発症する場合と尿細管間質に障害を生じるものと大きく分けられるが、事前にその診断が可能になることにより、AIMのより効果的な対象が明確化する可能性が高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：I conducted a clinical study of AIM on cats with spontaneous kidney disease. I studied that in the first year, launch of clinical trials and pre-clinical trials, in the second year clinical trials to verify AIM concentration and optimal dosing method, and in the third year the examination of the different AIM dose for 2 groups of cats with kidney disease.

From the results of these studies, promising items as AIM effect and response markers were clarified more, and not only the improvement of numerical values but also improvement of QOL were seen, and there were reports such as improvement of appetite and recovery of activity.

研究分野：獣生化学

キーワード：腎臓病 猫 IgM

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

AIM (apoptosis inhibitor of macrophage) は、組織マクロファージが自身のアポトーシスを抑制するために分泌する分子量 50kDa の蛋白質である。ヒト、サル、マウス、犬、猫など多くの脊椎動物に存在し、アミノ酸配列についても相同性が高く、基本的な立体構造は種を超えて保存されている。AIM は、血中では IgM5 量体と結合し、安定化している。AIM は以下の機能を有する。

#### AIM の作用例

抗肥満効果……脂肪細胞における抑制と亢進の両役割を持つ。低 AIM 濃度時は、AIM を上昇させることにより脂肪分解を促進。構造的な長期間の高 AIM 濃度時は、抑制することにより全身炎症をおさえる。

がん抑制……肝臓における肝細胞癌の除去促進。

腎臓障害改善……尿細管に詰まった壊死細胞を除去、つまりを改善し、腎障害の改善。

つまり、AIM は異物(癌細胞や壊死細胞)に付着・蓄積することでマクロファージによる速やかな異物除去機構を担い、発症部位や原因にかかわらず、進行を抑制する働きを有することが示唆されている。

ヒトやマウスの急性腎障害時、AIM は IgM5 量体から解離し、糸球体を通過して尿へと移行する。移行した AIM は尿細管の管腔に蓄積した死細胞に付着する。傷害を受けた尿細管の上皮細胞は KIM-1 を発現し、AIM の付着した死細胞を貪食することで効率よく除去するため、腎障害治癒は促進される。しかし猫では、AIM が IgM5 量体から解離しないことが、先の研究で分かった。猫 AIM は糸球体を通過せず、自浄作用はなされていない。これが、猫に腎不全が多い理由の一つとも考えられる。そして、猫の腎不全は、猫の死因トップであり、猫全体で 6.4% の罹患率、日本全体での推定数は約 80 万頭と報告されている。飼育猫の高齢化により、発症数は増加傾向であり、動物病院での治療数も増している。しかし、治療の決め手はなく対処療法が主流である。日本だけでなく、世界的にも同様な傾向であり、猫腎不全に対する効果的な製剤が強く望まれていた。

### 2. 研究の目的

今までのマウスの研究から、猫 AIM の特性が、AIM ノックアウトマウスの特性に類似し、外因性 AIM により、猫腎不全を改善する可能性が高いことが示唆されていた。そこで、動物病院との共同研究により、腎臓病を自然発症した猫への AIM 臨床投与を行い、AIM の腎機能改善と QOL 改善効果を検証し、新たな腎臓マーカーの確立を行うことを目的とした。さらに、新しい作用メカニズムの腎障害改善製剤の開発を目指すことを大きな目標とした。

### 3. 研究の方法

平成 29 年度については、北海道、青森、東京、山梨、大分の動物病院の協力を得て、臨床研究の立ち上げとプレ臨床研究を行った。国際獣医腎臓病研究グループ(IRIS)の策定した慢性腎不全のステージ分類に則り、ステージ 2 以上の自然発症の腎臓病の猫を各病院より推薦いただいた。その候補猫に対し、さらなる情報収集(既往例、合併症、現在までの腎臓病の状態の推移と治療内容)を行い、併せて担当獣医師による詳細な健康診断と血液検査を実施した。その上で、研究対象と考えられた猫の飼い主に対し、AIM 臨床研究参加への提案を行った。結果として、提案したほとんどの飼い主が臨床研究参加を希望され、約 9 か月に及び臨床研究に参加していただいた。経過観察として、18 回の測定ポイント(採血)を設定し、血液生化学検査、炎症マーカー測定、尿素素等を測定した。また、研究期間中、飼い主の協力を得て、健康状態管理シートを自宅につけていただき、約 90 日間の食欲、活動性、快適性などの変化を詳細に記録した。

平成 30 年度については、AIM 投与量(濃度)と最適な投与法の検証を行うため、新たに大阪、京都、岡山、鳥取、愛媛の協力動物病院を拡大し、腎臓病猫に対する AIM 臨床研究を行った。対象には、15 歳以下の自然発症した腎臓病の猫を協力動物病院から推薦いただいた。プレ臨床からの改善点として

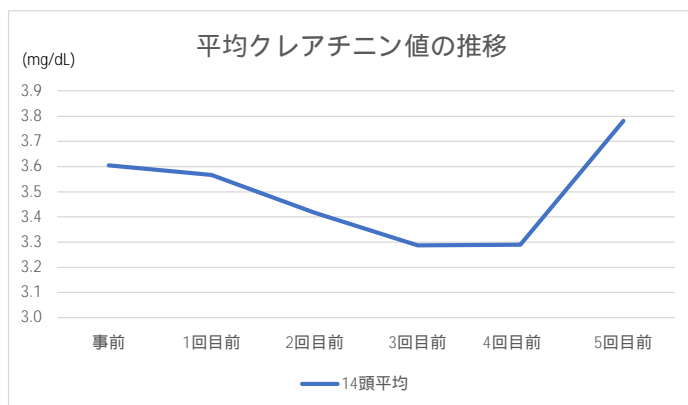
は、新たなマーカーとして、IgE 測定を加えた。AIM 量と併せて、投与回数と投与に要する時間の見直しと経過観察期間の軽減を行った。

さらに、令和元年度については、高用量(50unit)または、中用量(10unit)のいずれかの量の AIM を初回に投与し、その後4回、維持量を投与するプロトコルで検証を重ねた。検査ポイント、経過観察は更に改善を重ね、検査ポイントは、事前検査、1回目投与後、2 - 5回目投与前、全投与終了1週間後、全7回の計91日間を経過観察とした。

#### 4. 研究成果

期間中の研究を通して、血液生化学検査における BUN、クレアチニン、SDMA が変化をとらえるマーカーとして有効であることが再認識された。炎症マーカーとして測定した猫血清アミロイド(SAA)と 1-AG の動きも大変興味深い結果を示し、以降の研究においても、継続測定していく予定である。いくつか測定した尿毒素項目中では、インドキシル硫酸が有望であると考えられた。トリプトファンの終末代謝産物であるインドキシル硫酸は、血管内皮障害や糸球体硬化の促進に關与する代表的な尿毒素の一つであり、腎機能が正常に機能している際は尿とともに体外へ排出されるが、腎機能の低下による排尿量の減少に伴い、血中に蓄積される。しかし、食物により影響をうけることが推測され、今回の対象については、家庭飼育で食物の統一がかなわなかった為、数値にばらつきがあった。以降の臨床研究計画における条件改善が望まれる。

令和元年の対象は、腎臓病の治療を開始していない初期の腎臓病の猫が多かったこともあり、数値に有意な差は見られなかったが、QOL の報告から、状態を維持している(進行、悪化させない)可能性が高まったと考えられた。具体的には、対象平均値で検証した際、クレアチニン値は、4回目の維持量投与前まで、なだらかに低下し、その後上昇が見られた。つまり、1回目の規定量投与により、ほぼ約2か月間の効果があることが推測され、投与量と頻度を検証する有効なエビデンスとなった。



また、AIM の投与方法は、皮下投与、静脈投与などで行ってきた。静脈投与においては効果が見込まれても、猫、獣医師のいずれにも負担が大きかったことが明らかであった。また AIM の保管についても、状態変化を最小限にとどめる為、送付後短期間の冷凍保存を推奨したが、実際の臨床現場では、より保管しやすく、扱いが容易なものが望まれていた。

今回得られた結果と有望なマーカー候補については、これからの創薬に向けての臨床研究や治験において、大変参考になるものであると考える。投与プロトコルに関しては、まだ改善の余地はあるが、腎臓病の程度に併せた最適な AIM 投与方法構築の布石となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Habara M, Mori N, Okada Y, Kawasumi K, Nakao N, Tanaka Y, Arai T, Yamamoto I.	4. 巻 261
2. 論文標題 Molecular characterization of feline melanocortin 4 receptor and melanocortin 2 receptor accessory protein 2	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 General and Comparative Endocrinology	6. 最初と最後の頁 31 - 39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.01.020">https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.01.020</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	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
---------------------------	-----------------------	----