

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K17066

研究課題名(和文)急性腎障害に対するランソプラゾールの腎保護効果の検討

研究課題名(英文)Renoprotective effect of lansoprazole on acute kidney injury

研究代表者

川嶋 秀治(Kawashima, Shuji)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：00597198

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)：急性腎障害の治療薬は現在なく、我々は治療薬の候補としてランソプラゾールを挙げた。ランソプラゾールには抗酸化作用を有しており腎臓を保護すると仮設した。ランソプラゾールが急性腎障害に対して保護作用を示すかどうかを検討したが、急性腎障害モデルに対して保護効果を示すことができなかった。in vitroでは腎臓への保護効果を示す可能性を認めた。今回はCOVID-19蔓延により臨床現場の逼迫などにより十分な研究時間を確保することが難しい状態であった。今後、さらなる実験により急性腎障害への保護効果を示されることを望まれる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性腎障害はさまざま原因で生じるが治療薬がなく、慢性腎障害に移行し透析導入が必要となる危険性がある。また、透析導入患者は年々増加しており、医療費も年々増加している。現在において、急性腎障害に対する治療薬を開発するのは急務である。そのため、本研究によりin vitroでランソプラゾールが急性腎障害への治療薬への可能性が見出すことができたことは大きい。今後、さらなる実験系により急性腎障害への保護的作用とメカニズムを明らかにすることができればよい。

研究成果の概要(英文)：There is currently no treatment for acute kidney injury and we have identified lansoprazole as a potential therapeutic agent. We hypothesized that lansoprazole would have antioxidant properties and be protective to the kidneys. We investigated whether lansoprazole would be protective against acute kidney injury, but failed to demonstrate a protective effect in an acute kidney injury model, and found that lansoprazole may have a protective effect on the kidneys in vitro. In this study, it was difficult to find sufficient time for research due to the tight clinical situation caused by the COVID-19 epidemic. It is hoped that further experiments will demonstrate a protective effect against acute kidney injury.

研究分野：急性腎障害

キーワード：急性腎障害 ランソプラゾール NRF2

1. 研究開始当初の背景

急性腎障害は「急性の腎機能障害により腎機能が破綻し、体液恒常性の維持ができなくなる状態のこと」であり、治療薬はまだ確立されておらず慢性腎臓病へと移行し透析治療が必要となることもしばしばである。透析患者は年々増加しており、平成 24 年末で 32 万人を超えている。急性腎障害の治療確立は慢性腎臓病患者を減少させ、透析導入を遅らせるために急務である。

ランソプラゾールは 1995 年にアメリカ食品医薬品局により認可され、プロトンポンプ阻害薬として胃酸分泌を抑制し、現在も胃潰瘍や十二指腸潰瘍の治療に広く用いられている。近年、ランソプラゾールには転写因子 NF-E2 related factor 2 (以下、Nrf2) を発現誘導することにより抗酸化ストレス反応を介して急性肝炎モデルに対し保護効果があることが示された (上山ら PloS one, 2014)。Nrf2 の転写誘導能により細胞内の抗酸化タンパク質の増加や炎症のシグナル経路の抑制により組織を炎症から保護し、疾患の予防および改善に有効であると期待されている (図 1)。

バルドキシロンメチルは Nrf2 の転写誘導能を利用した糖尿病性の慢性腎臓病治療薬として現在臨床試験を行っているが、過去に慢性腎臓病の治療薬とした臨床試験において心疾患イベント、特に心不全の発現リスクが確認され中止となった経緯があり (de Zeeuw D et al. N Engl J Med, 2013)、腎臓において Nrf2 転写誘導能を示し、かつ安全性の高い医薬品の開発が必要である。しかし、Nrf2 誘導剤は他の臓器を標的とした試験薬においても副作用の問題を克服できないであり、Nrf2 転写誘導能を用いた医薬品の開発において安全性がネックとなっている。ランソプラゾールは世界各国で 20 年以上使われている医薬品であり、他の Nrf2 転写誘導剤にはない安全性がランソプラゾールには期待できる。

申請者らは、ラットにランソプラゾール投与を行い腎臓での抗酸化ストレスタンパク質誘導能をリアルタイム PCR により確認し、さらに免疫組織化学により抗酸化ストレスタンパク質の発現増加を尿細管上皮細胞で認めた。このため、Nrf2 を誘導するランソプラゾールは急性腎障害においても治療薬となる可能性があり、ドラッグリポジショニングとして期待できる。

本研究ではラット急性腎障害モデル (シスプラチン腎症、虚血再灌流障害) を用いてランソプラゾールによる腎臓への保護効果について検討を行い、良好な結果が得られた場合には学内の知財専門家と連携を取り、ランソプラゾールの新たな用法として特許申請を行い、臨床試験へと進めていく予定である。

2. 研究の目的

Nrf2 は抗酸化ストレスタンパク質をコードする遺伝子群の発現を誘導する転写因子として知られており、Nrf2 を標的とした慢性腎臓病治療薬の開発が行われているが副作用により十分な治療薬の開発に至っていない。

ランソプラゾールはプロトンポンプ阻害薬として長く用いられているがラット肝臓において Nrf2 の転写活性を誘導することが報告されており、ランソプラゾールに Nrf2 を介した腎保護機能を有せば、急性および慢性腎臓病に対し有効性が期待できるだけでなく、Nrf2 誘導剤で起こりうる副作用の問題も解決できる。

本申請では急性腎障害モデルラットにランソプラゾールを投与し、急性腎障害の治療薬としての可能性について組織学的、分子生物学的および生化学的に検討を行う。

3. 研究の方法

(1) シスプラチン投与による急性腎障害モデルに対するランソプラゾールの治療効果

シスプラチンは強力な抗腫瘍効果を有する化学療法剤として広く用いられているが、副作用の腎毒性はしばしば起こるため投薬の継続が難しい場合がある。副作用の機序としてはシスプラチンの近位尿細管障害によるものが広く知られており、さらに炎症性サイトカインのインターロイキン 18 (IL-18) が血清中で増加することによるものも近年報告されるようになった。このためシスプラチン投与による腎障害は Nrf2 の抗炎症効果により軽減できる可能性が考えられる。

本研究ではラットに抗腫瘍効果を示す用量のシスプラチンを投与することで急性腎障害モデルを作製し、シスプラチン投与によって生じる尿中タンパク質および血中クレアチニン濃度の増加をランソプラゾール投与により抑制できるか検討を行う。

(2) 腎虚血再灌流による急性腎障害モデルに対するランソプラゾールの治療効果

腎移植を含む外科的手術や心停止による腎虚血および再灌流により発生する活性酸素種により臓器障害が起こることが知られているが、活性酸素種を除去する方法は未だ開発されていない。Nrf2 の抗酸化ストレスタンパク質誘導能は活性酸素種を除去する生体防御機能であり、Nrf2 の誘導により虚血再灌流による急性腎障害において有効性が期待できる。

本研究ではラットにおいて腎虚血再灌流モデルを作製し、ランソプラゾールを投与することで腎臓における細胞の脱落や酸化ストレスマーカーの 4-ヒドロキシ-2-ノネナル (HNE) に対し反応する抗体を用いて組織学的に解析を行い、さらに尿および血液サンプルを用いて生化学的な解析も行うことで総合的にランソプラゾールの腎保護効果を解析する。

(3)ランソプラゾールによる腎保護効果における分子メカニズムの解明

Nrf2 転写誘導能は様々な分子メカニズムにより制御されており、誘導剤により異なる。ランソプラゾールは肝疾患の種類により抗炎症能の分子メカニズムが異なっており、およびで良好な結果が認められた場合、分子メカニズムを解明することで治療薬の新規標的分子を特定することができ、より良い医薬品の開発に繋げることができる。

本研究では、各々の疾患モデルで採取した腎臓より細胞質および核分画のタンパク質を抽出し二次元電気泳動および LC-MS/MS 解析より核分画にあるタンパク質でランソプラゾール投与により変動を認めるものを同定する。同定したタンパク質群より転写因子を探索しイムノプロット法を用いて確認を行い、ランソプラゾール投与による腎保護機能に関与し得るシグナルパスウェイを同定する。

4. 研究成果

ラットの腎臓の primary culture を行い、ランソプラゾール投与による抗酸化能についてリアルタイム PCR を用いて確認した。抗酸化ストレスタンパク質 (HO-1 や Nrf2) 誘導能はランソプラゾールを投与することで有意に増加を認めた (図 1 参照)。

本研究結果より上記のような仮説を立てラットの急性腎障害モデルを作成した。まずラットの急性腎障害モデルとしてシスプラチン腎症と虚血再灌流モデルの 2 種類のモデルを確立のため実験を施行し、シスプラチン腎症においてはシスプラチン

5mg/kg/day では day3 を peak としてクレアチニンや尿素窒素の上昇を認めた。シスプラチン 10mg/kg/day では day3 で半数のラットが死亡するため、シスプラチン障害が強すぎることで評価困難と判断した。そのため、本実験にはシスプラチン 5mg/kg/day を用いて行うこととした。

虚血再灌流モデルにおいては既報に従ってまず片側腎臓摘出術(右側)を施行後、1 週間の安静期間をあげた後に虚血再灌流(左側)を血管クランプで 30 分間クランプを行った。虚血再灌流後 1 日目の血液検査で著明な腎機能障害を呈し、虚血時間を調整するも腎機能障害が高度であった。同様に実験を繰り返すも既報のような腎機能障害モデルを作成できなかった。そのため、腎障害が高度となりすぎるためランソプラゾールの保護効果を検討するのが難しいと判断した。また、両側虚血再灌流障害へ腎障害モデルを変更して検討を行ったが、両側虚血再灌流障害での腎機能障害のばらつきが大きく一定した障害を作成するのに難渋をした。

そのため、急性腎障害モデルとしてはシスプラチン腎症のみを用いてランソプラゾールの保護効果を検討した。シスプラチン腎症にランソプラゾールを投与したが、血中クレアチニンや血中尿素窒素などの改善はなく、明らかな腎保護能を示すことができなかった。

Nrf2 ノックアウトラットも作成し、シスプラチン腎症でのランソプラゾールの保護効果を Nrf2 ノックアウトラットでも検討していく予定であったが、シスプラチン腎症モデルでのランソプラゾール投与が抗酸化ストレスタンパク質を有意に上昇しなかったため、ノックアウトラットを用いた実験は行わなかった。

研究代表者は大学病院としての臨床業務と教育業務をともに行っていたが、COVID-19 感染流行による臨床多忙のため実験計画が大幅に遅延した。最終的に COVID-19 の感染拡大が落ち着かず、シスプラチン腎症に対するランソプラゾール投与を行っており予定していた実験が期間内に完遂することができなかった。

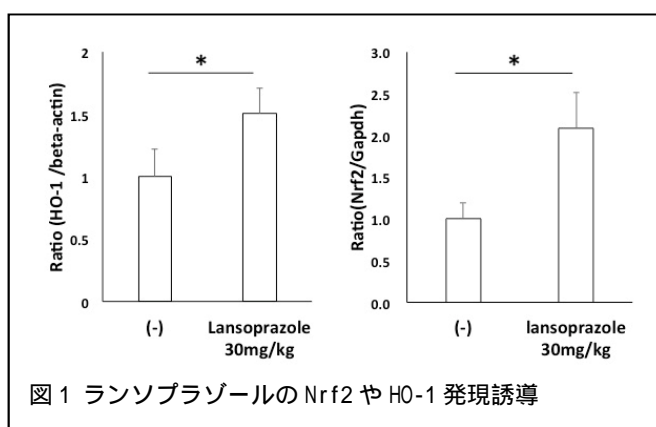


図 1 ランソプラゾールの Nrf2 や HO-1 発現誘導

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------