

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K08673

研究課題名（和文）メガリンを標的とした薬剤性腎障害治療戦略の開発

研究課題名（英文）Development of Therapeutic Strategies Targeting Megalin for Drug-Induced Kidney Injury

研究代表者

青木 信将（Aoki, Nobumasa）

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号：60646933

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：薬剤性腎障害は、腎臓内科分野に限らず、感染症治療、抗腫瘍療法など幅広い分野での問題となっている。申請者らはメガリンを介する腎障害発症機序を解明し、メガリン拮抗薬シラスタチン(CS)を同定した。本研究では、CSの腎障害軽減効果をCDDPによる薬剤性腎障害モデルで検証し、有意な腎障害の軽減と、それに伴うCDDP投与量増加により安全に抗腫瘍効果を高められることを報告した。また、CDDP投与患者の薬剤性腎障害発症において、投与前の尿中メガリンと、その後のCDDP誘発性腎障害との間に有意な相関が認められることを報告し、新たな腎障害マーカーとしての有用性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎障害は、腎疾患のみならず、併存疾患においても薬剤の制限、疾患の予後を左右するなど臨床上の大きな問題となる。これまで薬剤性腎障害軽減を目的とした治療戦略は確立されていないが、今回我々はCSを併用することで、腎毒性物質CDDPの安全な投与量増加の可能性を示した。腎障害患者への適応拡大と投与量増加による効果増強が見込まれ、革新的な治療として期待される。腎毒性の軽減戦略は、抗癌剤・抗微生物薬に限らず尿細管障害を有する物質に対して普遍的な効果を有する可能性がある。新たな診断マーカーとしての尿中メガリンと合わせ、リスクの診断と治療を通じ、腎障害軽減による広範な波及効果を持つ新たな治療戦略が期待される。

研究成果の概要（英文）：Drug-induced kidney injury is a concern not only in the field of nephrology but also in various areas such as infectious disease treatment and antitumor therapy. We have elucidated the mechanism of kidney injury mediated by megalin and identified cilastatin (CS) as a megalin antagonist. In this study, we examined the effect of CS in reducing kidney injury in a model of drug-induced kidney injury caused by CDDP, demonstrating a significant reduction in kidney damage. This reduction allowed for an increased and safer dose of CDDP, thereby enhancing its antitumor efficacy. Additionally, we reported a significant correlation between pre-administration urinary megalin levels and subsequent CDDP-induced kidney injury in patients receiving CDDP, highlighting the potential of urinary megalin as a novel biomarker for kidney injury.

研究分野：感染症、内科、腎臓、呼吸器

キーワード：薬剤性腎障害 メガリン シスプラチン コリスチン バンコマイシン

1. 研究開始当初の背景

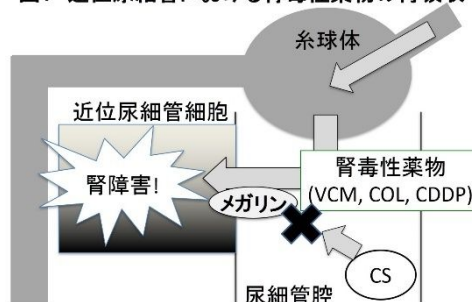
薬剤性腎障害はしばしば臨床上の課題となる。薬剤による腎機能障害の慢性化、あるいは慢性腎臓病患者における急性腎障害合併による急性転化は末期腎不全の重要な要因である。厚生労働科学研究腎疾患対策事業「CKDの早期発見、予防、治療標準化、進展阻止に関する調査研究」では、薬剤性腎障害の原因として非ステロイド系抗炎症薬(25.1%)、抗腫瘍薬(18.0%)、抗菌薬(17.5%)の順であった。抗菌薬、抗腫瘍薬は、代替薬がなく使用され、またその腎毒性が用量規定因子となる。腎障害は治療の成否と関連し、その回避は喫緊の課題といえる。例えば、近年社会問題となった多剤耐性グラム陰性菌に対する唯一の特効薬 COL は、40%に及び腎障害が報告される。また、蔓延する MRSA に対する VCM も高率な腎障害が知られている。抗腫瘍薬 CDDP については、強い腎毒性が知られるが、肺癌を始めとする複数の悪性腫瘍に第一選択薬となっている。

申請者は薬剤性腎障害について、近位尿細管細胞管腔側に存在するメガリンに着目し研究を行ってきた。メガリンは、我々の研究グループが世界で初めてクローニングした膜蛋白で、糸球体濾過蛋白質の再吸収・代謝を担う。VCM、COL、CDDP などの腎毒性薬物についても、メガリンを介して尿細管腔から近位尿細管細胞に再吸収され高濃度に蓄積した結果、尿細管障害を生じる事を示した(Aoki N *et al.*, JASN 2017)。さらにはメガリン拮抗剤として、CS が腎障害原因薬物のメガリンへの結合を拮抗的に阻害し、薬剤性腎障害発症を防止することを見出した(図1)。

また、ヒト尿中メガリンの ELISA 測定法を開発し、糖尿病性腎症などの CKD の重症度評価に有用であることを明らかにした。

メガリンは薬剤性腎障害の重要な標的分子と考えられるが、これまでの知見は限られている。尿中メガリンについても、薬剤性腎障害への応用はコンパニオン診断法として有望と思われるが、検討段階であり、さらなる知見の集積が必要である。

図1 近位尿細管における腎毒性薬物の再吸収



VCM、COL、CDDPは糸球体濾過後、メガリンにより再吸収され尿細管に蓄積、障害を来す
CSはメガリンとの結合を競合阻害、腎障害を抑制する

2. 研究の目的

本研究の目的は、腎毒性薬剤とメガリンの関連性を解明し、メガリンをターゲットとした腎障害の予防法と検査法を開発し、耐性菌感染症及び悪性腫瘍に対する新しい治療戦略の基盤を確立することである。具体的にはメガリンについて、CDDP など腎毒性薬剤とメガリンとの結合性と腎障害の誘導性を検討。腎毒性系減薬として有望な、メガリンリガンドであるシラスタチン(CS)について、動物モデルを用いてその効果の検証を行う。また、腎障害の新規検査法としてもメガリンに着目し、尿中メガリンの有用性を臨床患者検体を用いて確認する。

3. 研究の方法

マウス薬剤性腎障害モデルを用いた、CDDP 腎障害と CS 予防効果の検討

まず BALB/c マウスを用いた CDDP 腎症モデルを作成した。メガリンリガンドである CDDP 単独投与時と、CDDP に加えメガリンリガンド拮抗薬である CS を併用投与行った場合の腎障害について、腎組織形態、KIM-1 染色、尿中尿素窒素を比較し、検討を行った。

そして BALB/c マウスにマウス大腸癌細胞(CT-26)、C.B-17/lcr-scid マウスにヒト肺癌細胞(A549)を接種し皮下腫瘍モデルマウスを作成。CDDP 及び、CDDP と CS の併用投与を行い、CS の抗腫瘍効果に対する影響を検討した。さらに、同モデルマウスを用いて CDDP と CS 併用モデルにおいて、腎障害を生じることなく、CDDP 投与量の増量が可能か抗腫瘍効果とともに検討を行った。

尿中メガリンの腎障害マーカーとしての有用性検討

CDDP を含む化学療法を受けた非小細胞肺癌、小細胞肺癌、悪性胸膜中皮腫、連続 45 症例を対象に、化学療法開始前の尿中メガリン、さらにその他の腎障害・尿細管障害マーカー(NAG、1 ミクログロブリン、2 ミクログロブリン、NGAL、L-FABP)を測定。治療開始後の血清クレアチニン値を測定し、CDDP 投与による急性腎障害の発症と尿中メガリンを含む腎障害・尿細管障害マーカーとの相関性を検討した。

4. 研究成果

マウス薬剤性腎障害モデルを用いた、CDDP 腎障害と CS 予防効果の検討

CDDP 腎症モデルマウスを用いて、CDDP の最大耐用量を調査すると、3mg/kg の CDDP は既知の腎障害マーカーである KIM-1 の発現を増加させなかったが、6mg/kg の CDDP 投与により近位尿細管細胞での KIM-1 発現の上昇が認められた。一方、6mg/kg の CDDP と CS を併用した場合は KIM-

1 発現の減少が認められ、これらはBUNでの検討でも同様の結果であった。6mg/kgのCDDPがマウス腎障害モデルにおいて最大耐用量を超えていること、CSの併用により腎障害が軽減され6mg/kgのCDDPも安全に投与可能となることが示されている(図2)。

次に、CDDP治療へのCSの併用が抗腫瘍効果に影響を与えるかについて検討を行った。BALB/cマウスへCT26マウス結腸腺癌細胞を、SCIDマウスにA549ヒト肺腺癌細胞を接種し、CDDP単独投与群及び、CDDPとCSの併用群において、腫瘍のサイズを測定し記録したところ、いずれの腫瘍細胞モデルにおいてもCDDPの抗腫瘍効果を低下させないことが確認されている(図3)。

CSはCDDPの抗腫瘍効果へ負の影響を与えないことが示され、また、CDDPの投与制限毒性である腎障害を軽減する作用を有している。すなわち、CDDPとCSの併用治療により、CDDPの投与量を安全に増やすことが可能かもしれない。この仮説を検証するため、実際に腎機能障害を来さず増量可能であった6mg/kgでのCDDPとCSの併用治療での抗腫瘍効果を確認すると、同様に腎障害を来さず投与可能な3mg/kgのCDDP単独群と比較して、有意にヒトおよびマウスの腫瘍細胞の進行を抑制することが可能であった(図4)。

CDDPとCSの併用療法はCDDPの投与量を増加することを可能にし、腎毒性を抑制することでその抗腫瘍効果

図2 CDDP腎障害モデルでのCS腎障害予防効果(腎組織、KIM-1、尿素窒素)

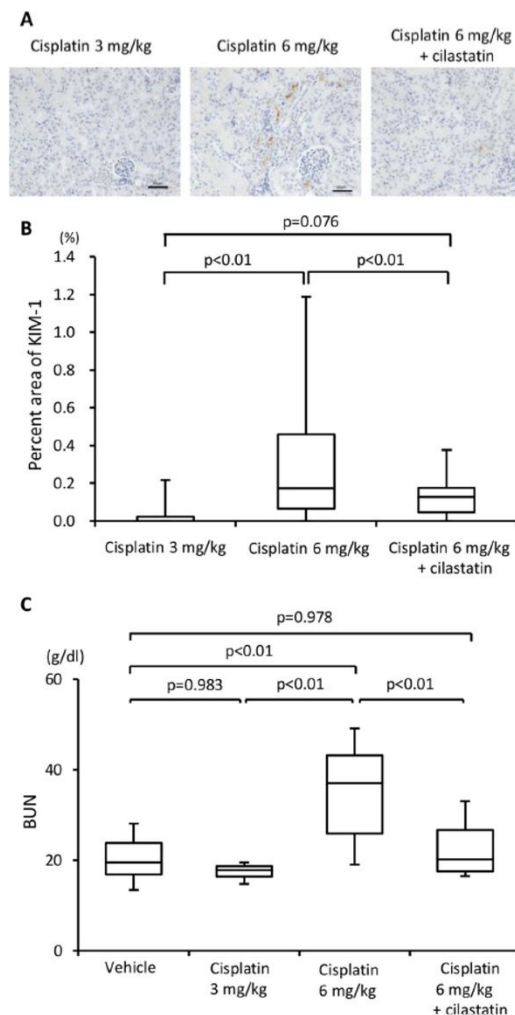
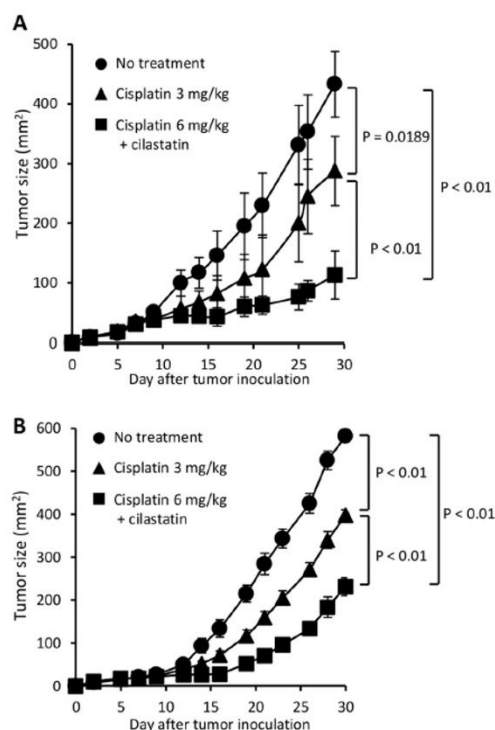
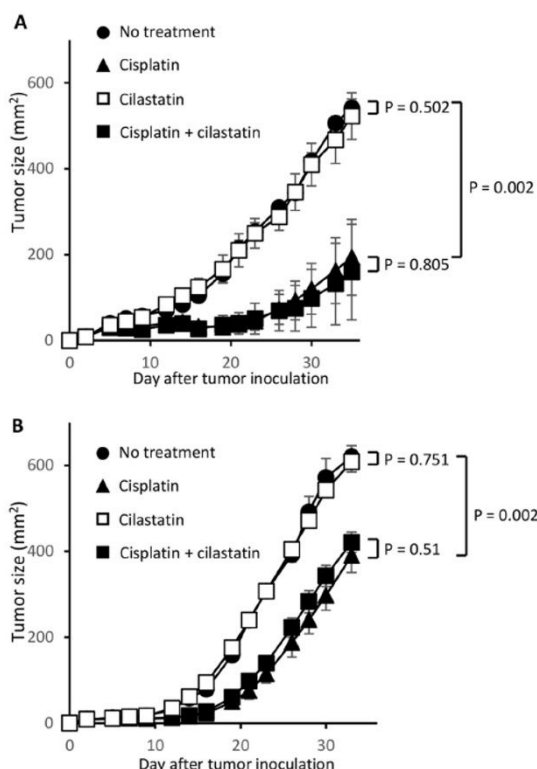


図3 CSのCDDP抗腫瘍効果への影響(A;BALB/c (CT26)、B;SCID (A549))

図4 CS併用時のCDDP抗腫瘍効果(A;BALB/c (CT26)、B;SCID (A549))



を高める可能性が示唆された。CDDP は最も活性の高い抗がん剤の一つであり、新たな抗腫瘍治療戦略となりうる結果と考えられた。また、慢性腎臓病患者では、腎機能悪化のリスクのため、実臨床ではCDDP 使用が避けられている。CS 併用により慢性腎臓病患者への治療選択肢を広げる可能性も考えられる。

尿中メガリンの腎障害マーカーとしての有用性検討

CDDP を含む化学療法を受けた 45 症例について、化学療法開始前の尿中腎障害・尿細管障害マーカーを測定すると、患者集団は尿中メガリン値により 4 分位に分けられている (Q1-Q4)。これら 4 分位間では、年齢、性別、喫煙歴、RAA 系阻害薬の使用、NSAIDS 使用、高血圧、糖尿病、治療前 eGFR、CDDP 使用量などベースラインの患者情報に有意差はみられなかった。45 例中 24 例 (53.3%) で急性腎障害の発症を認めている。ピアソンの相関係数では、治療開始前の尿中メガリン値と治療開始前後の eGFR 変化量との間に有意な相関を認めた ($r = -0.458$, $p = 0.002$, 図 5)。また、4 分位 (Q1-Q4) に分けた患者群間において、eGFR が $10\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 以上低下することをエンドポイントとして、 Kaplan-Meier 曲線による検討を行うと、eGFR の低下は治療前尿中メガリン値と有意な相関を認めている ($p = 0.038$, 図 6)。加えて、コックス比例ハザードモデルを用いて同様の検討を行うと、最も治療前尿中メガリンが高値であった Q4 群は eGFR 低下のリスクが有意に高いことも示されている (HR 7.243; 95%CI 1.545-33.962)。その他の腎障害・尿細管障害マーカーでは治療開始前の値と eGFR 低下との間に相関性は認められなかった。

CDDP 投与前尿中メガリンが CDDP 誘発性腎毒性の発生と相関しており、腎障害発症の新しい予測因子となり得る可能性があることが示されている。CDDP を始めとするメガリンを介する腎障害誘発物質による腎障害リスクのある患者を特定し、予防療法の可能性を検討できる結果と考えられる。メガリン拮抗物質 CS による予防療法とともに、尿中メガリンも新たな診断法として、今後の研究開発が期待される。

図 5 CDDP 投与前尿中メガリン量と投与後 eGFR 変化量の相関

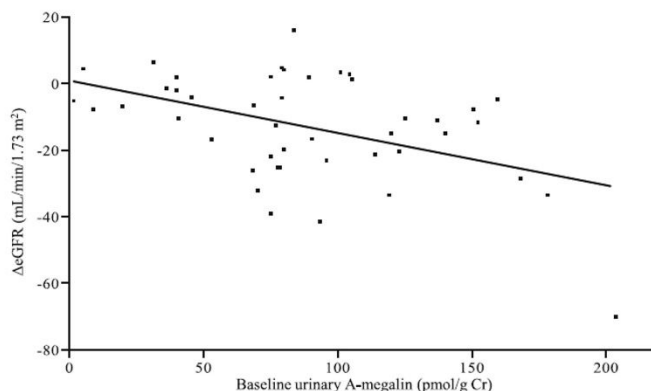
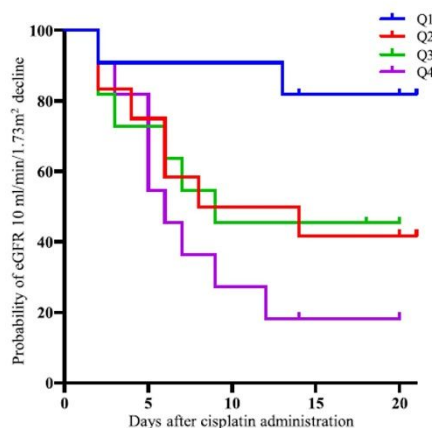


図 6 腎障害非発症生存期間に関する Kaplan-Meier 曲線



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Arita Masashi, Watanabe Satoshi, Aoki Nobumasa, et al.	4. 巻 11
2. 論文標題 Combination therapy of cisplatin with cilastatin enables an increased dose of cisplatin, enhancing its antitumor effect by suppression of nephrotoxicity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 750-759
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-80853-6	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 -

1. 著者名 Shoji Satoshi, Hosojima Michihiro, Kabasawa Hideyuki, Kondo Rie, Miura Satoru, Watanabe Satoshi, Aoki Nobumasa, Kaseda Ryohei, Kuwahara Shoji, Tanabe Naohito, Hirayama Yoshiaki, Narita Ichiei, Kikuchi Toshiaki, Kagamu Hiroshi, Saito Akihiko	4. 巻 19
2. 論文標題 Correlation of prechemotherapy urinary megalin ectodomain (A-megalin) levels with the development of cisplatin-induced nephrotoxicity: a prospective observational study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 1170-1177
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12885-019-6398-2	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1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 有田将史
2. 発表標題 シラスチンによりシスプラチン腎症を制御することでシスプラチン投与を増量できる
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔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
研究分担者	渡部 聡 (Watanabe Satoshi) (50529740)	新潟大学・医歯学総合病院・講師 (13101)	
研究分担者	斎藤 亮彦 (Saito Akihiko) (80293207)	新潟大学・医歯学総合研究科・特任教授 (13101)	

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