

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17302

研究課題名(和文) ERK経路阻害剤による半月体形成性腎炎抑制効果の検討

研究課題名(英文) The role of ERK pathway inhibitors in rat crescentic glomerulonephritis

研究代表者

永井 隆 (NAGAI, Takashi)

徳島大学・病院・特任助教

研究者番号：20835582

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、作成した半月体形成性腎炎モデルラットに、ERK経路阻害剤として ERK1/2のリン酸化を阻害するMEK1/2阻害剤、ERK5のリン酸化を阻害するMEK5阻害剤を投与し、正常対照群および無治療腎炎群と比較した。半月体形成率の検討において、MEK1/2阻害剤投与群では無治療腎炎群と比較して半月体形成率の低下が認められた。またMEK5阻害剤投与群でも半月体形成率の軽度低下が認められた。これらの結果は腎炎においてERK経路が新たな治療標的となる可能性を示唆するものと思われた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究にて半月体形成性腎炎におけるERK経路の関与およびERK経路阻害剤の一定の効果を証明することができ、今後投与方法の工夫や投与量の調整、ヒト腎炎など引き続き研究を継続していくことにより、ERK経路を治療標的とする新たな治療法の開発につながりうるものと考えている。今後ERK阻害剤が既存の治療に抵抗性を有する腎炎に対しても、その作用機序の違いから効果を発揮する治療戦略となりうることを期待する。

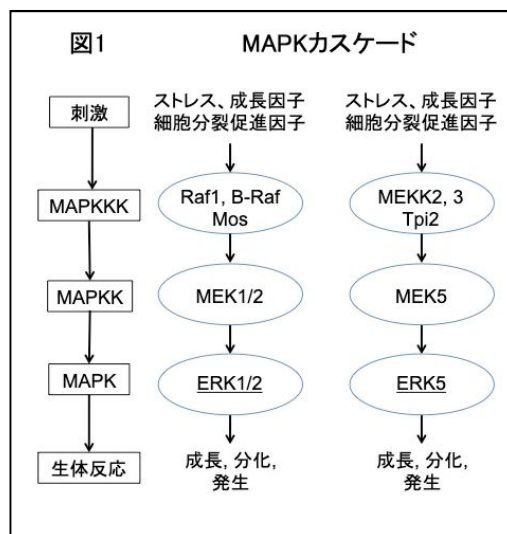
研究成果の概要(英文)：We investigated the role of MEK1 / 2 inhibitor and MEK5 inhibitor as ERK pathway inhibitors in rat crescentic glomerulonephritis. The inhibitor-administered groups were compared with the normal control group and the untreated nephritis group. The crescent formation rate of the MEK1 / 2 inhibitor-administered group was decreased as compared with the untreated nephritis group. The crescent formation rate of the MEK5 inhibitor-administered group was slightly decreased as compared with the untreated nephritis group. These results suggested that the ERK pathway may be a new therapeutic target in nephritis.

研究分野：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：半月体形成性腎炎 ERK経路 MEK1/2阻害剤 MEK5阻害剤

1. 研究開始当初の背景

本研究のテーマである半月体形成性腎炎は、病理像として「多数の糸球体に半月体の形成を認める壊死性半月体性糸球体腎炎」が典型的であり、また臨床像としては急速進行性糸球体腎炎の経過をとる。急速進行性糸球体腎炎は最も重篤な糸球体腎炎症候群として知られており、「急性あるいは潜在性に発症する肉眼的血尿、蛋白尿、貧血、急速に進行する腎不全症候群」と定義される。本邦では毎年 2400-2700 人の患者が新たに発症しているとされ、透析導入原疾患の第 5 位、腎生検件数の約 6%を占めており、重要な疾患のひとつと位置づけられている。現在ガイドラインで推奨される標準的治療としてはステロイドパルス療法、ステロイドや免疫抑制剤を用いた多剤併用療法などがあるが、治療反応性に乏しく、急速に腎機能が低下し、数ヶ月以内に末期腎不全に至り、透析や腎移植を余儀なくされる例も少なくない。半月体形成性腎炎の進展機序は、刺激因子によって障害を生じた糸球体係蹄壁からポウマン腔にマクロファージの浸潤や血漿成分の漏出が起こり、種々のサイトカインや成長因子の働きにより増殖した細胞が半月体を形成することによる。さらにそれらが進行すると細胞外基質の蓄積および線維化へと進展し、やがて硬化へとつながっていくことが証明されている。研究代表者はこれまでそれら腎炎の進展機序と ERK1/2、ERK5 による細胞内シグナル伝達機構との関連について研究してきた。ERK1/2 は細胞外から受けた刺激を細胞核に伝え増殖、分化、発生、アポトーシスなどの生体反応につなげる主要なシグナル伝達経路のひとつ、Mitogen-activated protein kinase(MAPK)カスケードを司るキナーゼ分子である。成長因子や細胞分裂促進因子、ストレス刺激を受けると、活性化した Raf ファミリーキナーゼ、Mos などが MEK1/2 を活性化させる。MEK1/2 は ERK1/2 を特異的にリン酸化させる MAPK キナーゼ (MAPKK) で、リン酸化した ERK1/2 (pERK1/2) はさらに標的因子をリン酸化して活性化することで様々な情報伝達の制御、遺伝子発現の誘導などを行い、細胞の成長、分化、発生に作用している (図 1)。ERK5 も相似の経路でリン酸化した ERK5 (pERK5) が別の標的に作用し成長、分化、発生に寄与するキナーゼ分子で、成長因子や細胞分裂促進因子、ストレス刺激で活性化され、情報伝達の制御、遺伝子発現の誘導などを行う (図 1)。ERK 経路にはいまだあきらかとなっていない働きがあるとされており、本研究では MEK1/2 阻害剤および MEK5 阻害剤をラット半月体形成性腎炎モデルに投与し、ERK 経路と腎炎進展機序との関連および阻害剤による腎炎進行抑制効果を検討することとした。



2. 研究の目的

本研究の目的は MEK1/2 阻害剤および MEK5 阻害剤が腎炎進行を抑制する新たな治療戦略となる可能性を模索することである。腎病態における ERK1/2、ERK5 の役割は徐々に解明されつつあるが、ERK 経路阻害剤を用いた場合、腎炎進展にどのような作用をおよぼすかはまだ不明な点が多い。研究代表者は培養メサングウム細胞において、MEK1/2 阻害剤および MEK5 阻害剤を投与しリン酸化 ERK1/2、リン酸化 ERK5 の発現が抑制されることを立証しているが(Nagai et al. Nephrology Carlton 21:950-958, 2016)、腎炎モデルを用いた生体投与においても同様な作用をおよぼしうるかを検証する。ヒト腎炎においても ERK 経路を介した腎炎進展機序は重要と考えられ、ラットにおける腎炎進展抑制効果を立証し、将来的なヒトへの臨床応用を見据えた、既存の治療に抵抗する難治性腎炎に対する新たな治療法の基盤となりうるものと考えられる。

3. 研究の方法

生後 7 週齢の雄 WKY ラットに抗基底膜抗体を尾静脈から投与し、半月体形成性腎炎モデルを作成した。腎炎惹起後、MEK1/2 阻害剤として Trametinib を 4 週間連日経口投与した群を MEK1/2 阻害剤投与群、同様に腎炎惹起後、MEK5 阻害剤として BIX02189 を連日腹腔内投与した群を MEK5 阻害剤投与群と設定した。あわせて無治療腎炎群および正常対照群を作成した。

(1) 尿蛋白量の検討

代謝ケージを用いて経時的に採尿を行い、腎炎惹起後の尿蛋白の推移を検討した。各群は無治療腎炎群および正常対照群と比較検討した。

(2) 半月体形成率の検討

腎炎を惹起し 4 週間の投薬を実施したラットから腎臓を摘出し、パラフィン包埋切片を作成した。切片の薄切、染色を行い、腎系球体における半月体形成率を無治療腎炎群および正常対照群とともに比較検討した。

4. 研究成果

ラット半月体形成性腎炎モデルに MEK1/2 阻害剤および MEK5 阻害剤を投与し、無治療腎炎群および正常対照群と比較検討した。

尿蛋白量の検討においては、MEK1/2 阻害剤投与群では腎炎無治療群と比較して尿蛋白量の低下が認められた。一方、MEK5 阻害剤投与群では尿蛋白量のあきらかな差異は認められなかった(図 2)。

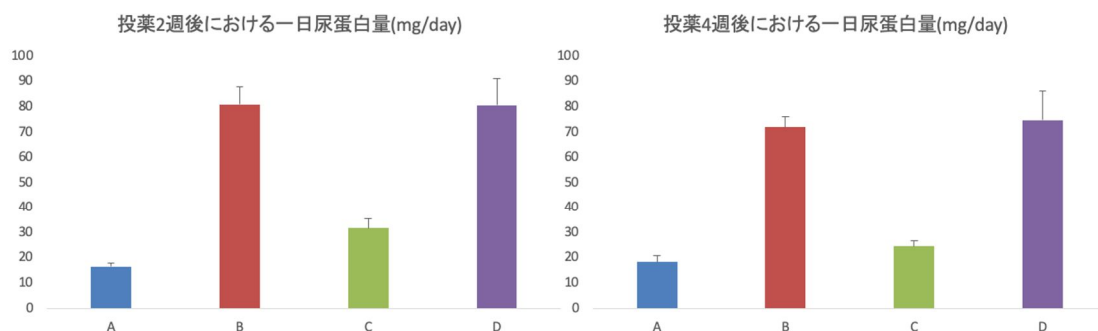


図2 A: 正常対照群、B: 無治療腎炎群、C: MEK1/2阻害剤投与群、D: MEK5阻害剤投与群として投薬2週後および4週後における一日尿蛋白量の比較

半月体形成率の検討において、MEK1/2 阻害剤投与群では無治療腎炎群と比較して形成率の低下が認められた。また MEK5 阻害剤投与群でも形成率の軽度低下が認められた(図 3)。

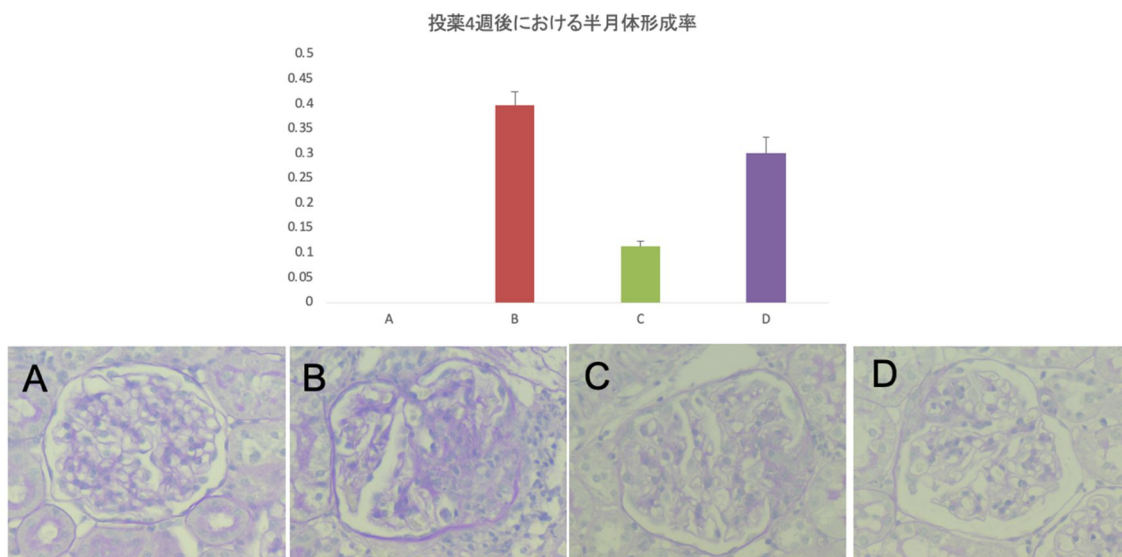


図3 A: 正常対照群、B: 無治療腎炎群、C: MEK1/2阻害剤投与群、D: MEK5阻害剤投与群として投薬4週後における半月体形成率の比較

本研究にて半月体形成性腎炎における ERK 経路の関与および ERK 経路阻害剤の一定の効果を証明することができた。これまでのデータの検証および追加実験を行い、今後投与方法の工夫や投与量の調整、ヒト腎炎など引き続き研究を継続していくことにより、ERK 経路を治療標的とするあらたな治療法の開発につながりうるものと考えている。今後 ERK 阻害剤が既存の治療に抵抗性を有する腎炎に対しても効果を発揮する治療戦略となりうることを期待する。

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
---------	---------