

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17709

研究課題名(和文)CKD合併症におけるCaSRの病態生理学的意義の探索

研究課題名(英文)The investigation of the pathophysiological significance of Ca-sensing receptor in CKD complications

研究代表者

島田 果林(Shimada, Karin)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：60814770

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): CKD合併症の中でも、二次性副甲状腺機能亢進症には、早期から副甲状腺のCa感受受容体の発現低下が関与していることが報告されている。その他のCKDの代表的合併症である腎性貧血にもCa感受受容体の発現が関与している可能性を考えた、Calcimimeticsは、Ca感受受容体作動薬であり、骨髄細胞を刺激させると、赤血球系細胞への分化が促進することが証明できた。動物実験では、アデニン腎症による貧血モデルではcalcimimeticsによる貧血改善効果を認めたが、失血モデルでは有意ではなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病の主たる合併症である二次性副甲状腺機能亢進症の病態形成に副甲状腺のCa感受受容体の発現低下が関与していることは知られているが、同じく重要な合併症である腎性貧血は腎におけるエリスロポエチンの産生低下が主因であると考えられ、Ca感受受容体の関与は調べられてこなかった。本研究では、動物実験において、貧血に対するCa感受受容体の関与を明瞭に示すことはできなかったが、細胞実験においては、Ca感受受容体が、骨髄細胞の赤血球系への分化誘導に大きく関与することが示されており、病態の一因であることが示唆され、引き続きの研究で治療法開発につながる可能性が高いと考える。

研究成果の概要(英文): Secondary hyperparathyroidism is associated with the loss of expression of Ca-sensing receptor (CaSR) even in early stage of CKD. We examined whether the expression of CaSR also determines renal anemia. We clarified calcimimetics, a drug which activates CaSR, stimulated hepatopoietic stem cells and promoted erythropoiesis in vitro. In vivo model we used adenine-induced CKD anemia mouse and phlebotomy model, but did not show calcimimetics improved their anemia.

研究分野: 腎臓内科

キーワード: Ca感受受容体 腎性貧血 慢性腎不全 二次性副甲状腺機能亢進症 calcimimetics

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

CKD の早期の段階では、体内リンの蓄積が起こり、血清 Ca 低下、ビタミン D 低下で SHPT が顕在化する。また SHPT 発症には副甲状腺の CaSR 発現低下が重要であることが報告されている (Kidney Int.1997;51:428-36)。SHPT 治療薬として Calcimimetics が登場し、大動脈弁や冠動脈の石灰化が抑制されたという ADVANCE study (J Heart Valve Dis.2013;22(3);391-9) や、骨折や心不全が抑制されたという EVOLVE trial (JASN.2015;26:1466-75, CJASN.2015;10(5);791-99)、全死亡が大幅に抑制されたという CKD-5D 研究 (Sci Rep.2016;6:19612) などの臨床研究結果が報告された。これらの効能は PTH 抑制の程度で補正した上での結果であり、PTH 抑制のみでは説明できない。Calcimimetics が副甲状腺以外の合併症臓器に発現する CaSR への直接作用を有する可能性が示唆され、逆説的には CVD 含めた種々の合併症発症に副甲状腺外臓器の CaSR が関与している可能性が示唆される。さらに基礎研究で、CKD では副甲状腺に加え腎臓、血管平滑筋で CaSR 発現が低下する (J Am Soc Nephrol.1998;9:2067-74, Am J Physiol Renal Physiol.2007;293:946-55) という報告が示されている事から、CKD の進展には CaSR 発現低下という共通した病態があるのではないかと考えた。CKD では諸臓器の CaSR の発現低下が起こり、calcimimetics による直接作用で CaSR 発現が回復し、本来の生理的作用を取り戻すという仮説が成り立つのではないだろうか? と考えた。

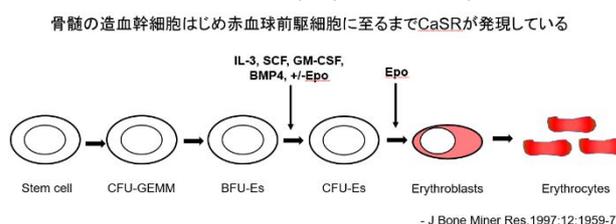
2. 研究の目的

本研究の目的は、CKD の最大の予後因子である CVD、腎性貧血や SHPT といった合併症全般、さらには CKD 自体に CaSR 発現低下という共通の病態がある可能性を検証すること、特に腎性貧血に着目し、calcimimetics により腎性貧血の改善効果が得られるか検証することである。

3. 研究の方法

骨髄造血幹細胞・赤血球前駆細胞へ calcimimetics を投与し、CaSR を直接刺激する“造血臓器”の中心は骨髄であり、骨髄の造血幹細胞はじめ赤血球前駆細胞に至るまで CaSR が発現していることが報告されている (J Bone Miner Res. 1997 :12(12);1959-70.)。

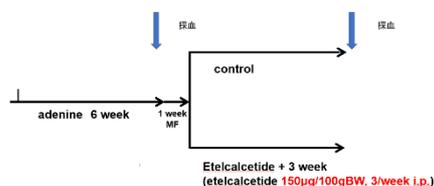
我々はまず初めに骨髄“造血幹細胞や赤血球前駆細胞”に発現する CaSR に着目することとした。造血臓器の中心である骨髄細胞自体への calcimimetics による治療効果を検証することとした。右図のように、造血幹細胞は、BFU-E、CFU-E を経て赤芽球、赤血球と段階的に分化していく。



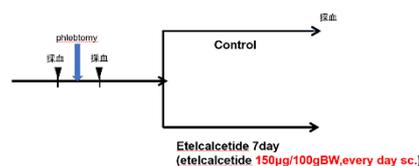
C57B6/6J マウス (6 歳) の骨髄細胞を採取し、エリスロポエチンを含むメチルセルロース培地 (CFU-Es のみ観察できる) で培養、赤芽球系への分化誘導を行い、calcimimetics 添加の有無により CFU-Es のコロニー数が変化するか colony count を行い、さらに、globin の mRNA の発現変化を real-time PCR 法を用いて評価した。

アデニン腎症による腎性貧血マウス、失血による貧血モデルマウスに calcimimetics を投与し、貧血改善効果を確認する

まず C57B6/6J マウスに 0.2%アデニンを混餌投与し、6 週間飼育し、Hb 濃度を測定し、貧血を確認した。その後 3 週間に渡り、calcimimetics (etelcalcetide) (150ug/100gBW, 3 times/week, i.p.) を行った後、Hb 濃度の再測定ならびに骨髄中の Ter119 陽性細胞の割合を調べた。

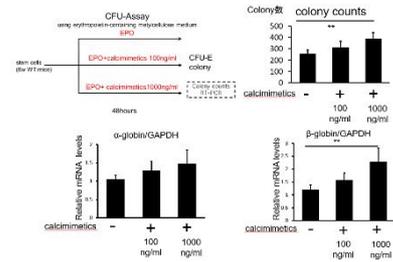


失血モデルは、眼窩より 300-500uL の瀉血を行い、Hb 濃度を測定し、貧血を確認した。その後 1 週間に渡り calcimimetics (etelcalcetide) (150 µg/100gBW, every day s.c.) を投与し、後 Hb 濃度測定を行い評価した。



4. 研究成果

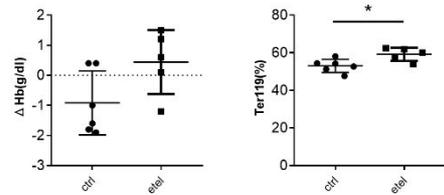
エリスロポエチンで赤芽球系へ分化誘導すると同時に calcimimetics を投与し CaSR を刺激したところ、calcimimetics 容量依存性に赤芽球系への分化が促進することを確認した (CFU-Es のコロニー数が上昇していた)。Calcimimetics が赤血球前駆細胞に作用し赤血球系への分化誘導を行う事を確認した (α -globin, β -globin の mRNA の発現が上昇していた)。



アデニン腎症マウスの calcimimetics(etelcalcetide) 投与後 Hb-投与前 Hb を Hb と定義し、貧血改善効果を評価したところ、Hb は、calcimimetics 投与の有無では有意差がつかなかったが、骨髄中の Ter119 陽性細胞割合は有意に増加しており、貧血改善効果が示唆された。

失血モデルに関しては、calcimimetics(etelcalcetide) の投与の有無にかかわらず、1週間で貧血が改善するため、両群で貧血改善効果に有意差はみられなかった。

Etelcalcetide投与は赤血球系骨髄細胞を増殖させる



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