

機関番号:11301

研究種目:基盤研究(B)

研究期間:2008~2010

課題番号:20390043

研究課題名(和文) ヒト腎臓トランスポーターのインビボ評価システムの開発

研究課題名(英文) Development of in vivo evaluation system of human organic anion transporter

研究代表者:

阿部 高明(ABE TAKAAKI)

東北大学・大学院医工学研究科・教授

研究者番号:80292209

研究成果の概要(和文):

ヒト腎臓には有機アニオンを排出するOATPトランスポーターはSLC04C1しかなく腎不全時にはその発現低下が糸球体濾過低下とともに尿毒症物質排泄低下の原因と考えられた。その仮説を検証するためにヒトSLC04C1を腎臓特異的に発現するトランスジェニック(TG)ラットを作製し腎不全状態にした後にキャピラリー電気泳動質量分析計を用いて網羅的メタボローム解析を行ったところTGラットで多くの腎不全物質の血中濃度が有意に減少しておりそれらが抗炎症作用や血圧の正常化をもたらしていること、並びにスタチンにその発現増強作用があり尿毒症物質の排泄を促進しており、新たな腎不全治療法を提示した。

研究成果の概要(英文):

In chronic kidney disease (CKD) patients, the accumulation of uremic toxins causes difficulty in controlling blood pressure, impairs renal function and worsens prognosis. The reduction of accumulated uremic toxins protects against the development of hypertension and ongoing renal damage, but there is no established treatment so far. We have demonstrated that the overexpression of human kidney-specific organic anion transporter SLC04C1 in rat kidney reduced hypertension, cardiomegaly and inflammation in renal failure together with a reduction of plasma uremic toxins, guanidinosuccinate (GSA), asymmetric dimethylarginine (ADMA) and *trans*-aconitate. *Trans*-aconitate is a newly identified uremic toxin.

By transcriptional analysis, we found that the SLC04C1 transcription is upregulated by various statins. Statins potentiate renal proximal function and facilitate excretion of uremic toxins, resulting preventing hypertension and renal inflammation in the renal failure. These data suggest that SLC04C1 upregulation provides a novel transporter-based therapeutic strategy for CKD patients to reduce renal damage and life-threatening events.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	7,900,000	2,370,000	10,270,000
2009年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2010年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野:医歯薬学

科研費の分科・細目:薬学 医療系薬学

キーワード:腎臓、トランスポーター、尿毒症、遺伝子改変動物、プロモーター、SLC04C1、スタチン

1. 研究開始当初の背景

腎不全と透析を受ける患者の数は年々増加の一途を辿っており、現在20万人が維持透析治療を行っておりさらに毎年3万人以上が新たに透析導入に至る。透析療法には一人あたり年間500万円の費用がかかるため、20万人に対して1兆円の医療費が恒常的に必要となっている。

従って透析導入を遅らせる治療法が開発されれば医療費の削減が可能となり社会に大きく貢献することが出来る。

生体内での異物、毒物、尿毒症物質の排泄には肝臓と腎臓が大きく関与している。なかでも水溶性あるいは水溶性に体内代謝を受けた物質は腎臓から尿中に排泄される。しかしながらヒト腎臓からの尿毒症物質の詳細な解析と腎排泄に関わる因子はインドキシル硫酸以外詳細には解明されていなかった。また透析では除去できない尿毒症物質の体内への蓄積による腎障害の発生という悪性サイクルが臨床で問題となっており新たな尿毒症物質排泄システムの構築が急がれていた。請者はヒト腎臓にのみ発現している有機アニオントランスポーターOATP-Rを世界で初めて発見した(特許第4008481号)。ラットやマウスには複数の有機アニオントランスポーターが血管側、尿管側両方に存在するがヒト腎臓においてはヒトOATP-Rが近位尿細管血管側だけに発現しており、血液から腎臓に内因性物質や各種薬物を送り込む輸送蛋白質であることが明らかになった。更にヒトOATP-Rは心不全や不整脈の治療に用いられるジゴキシンや尿毒症物質の腎からの排泄に関与する重要な遺伝子であること、また腎不全状態においてはOATP-Rの発現は著しく低下することから、OATP-Rが尿毒症物質や薬物の腎排泄を規定する重要な遺伝子であることが明らかとなった。

しかし腎不全時にはほぼ全ての血管側トランスポーターの発現は低下しておりSLC04C1の発現も低下しており、このSLC04C1トランスポーターの発現低下が糸球体濾過低下とともにヒト腎不全時における尿毒症物質排泄低下の原因と考えられた。

2. 研究の目的

そこで本研究は尿毒症物質の体外への排泄を促進することを目標として、我々が世界で初めて単離した、ヒト腎臓唯一存在する薬物・尿毒症物質を輸送することの出来る有機アニオントランスポーターSLC04C1を腎不全治療の新たな治療目的蛋白と位置づけ、その転写調節メカニズムと誘導薬剤の探索、動

物・ヒト血液のメタボローム解析と尿毒症物質除去方法の検討を行い、新たな腎不全の診断法、治療薬の開発、治療方法の確立を目指した。

3. 研究の方法

ヒトではSLC04C1は腎臓において唯一のOATPであるが、ゲッ歯類においてはいくつかのoatpが存在するため、SLC04C1単独の機能解析を行う場合ゲッ歯類の研究結果をそのままヒトに応用する上での障害となる。そこで今回我々は近位尿細管に特異的に発現するマウスグルコーストランスポーターsglt2の5'上流領域を用いてラット腎臓近位尿細管にヒトSLC04C1を発現させたトランスジェニックラットを作製し、ヒト腎臓におけるSLC04C1の機能をラット生体内で解析する事を目的とした。さらにSLC04C1遺伝子上流の転写調節領域を解析する事により、SLC04C1の発現増強物質を探索し、その発現増強物質が新たな腎不全治療薬となりうる可能性について検討した。

4. 研究成果

ヒトSLC04C1を腎臓特異的に発現するトランスジェニック(TG)ラットを作製した。

そのラットに腎摘を行い腎不全状態にすると、TGラット群ではコントロール群に比較して高血圧、心肥大、腎臓内の炎症が軽減する事が明らかとなった。この腎症保護作用や降圧機序を解明するためにキャピラリー電気泳動質量分析計(CE-MS)を用いて血漿、尿の網羅的メタボローム解析を行ったところTGラットではasymmetric dimethylarginine(ADMA)、gunidino-succinate(GSA)、*trans*-aconitateの血中濃度が有意に減少していて、それらが炎症や高血圧を惹起していることも明らかとなった。

そこで腎不全時の腎機能改善・増強を目的としてSLC04C1の発現を増強する物質の検索を行った。SLC04C1の5'上流域を単離しルシフェラーゼベクターに組み込み転写活性領域の解析を行ったところ、転写開始上流-126bpのxenobiotic responsive element(XRE)類似領域がSLC04C1の転写調節に重要である事が明らかとなり、XREの受容体AhRに結合することの出来るイミダゾールあるいはインドキシルを構造内に持つ化合物を中心にスクリーニングしたところ、高脂血症治療薬であるスタチンがSLC04C1の転写活性を増強する事が分かった。そこでSLC04C1の発現増強作用による尿毒症物質排泄促進を確認するためにラット腎不全モデルにスタチンを投与したところ腎機能の改善と尿毒症物質の排泄促進が確認され新たな腎不全治療法が確立された(JASN2009、日経新聞、毎日新聞、読売新聞)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 18 件)

1. Souma T, Abe M, Moriguchi T, Takai J, Yanagisawa-Miyazawa N, Shibata E, Akiyama Y, Toyohara T, Suzuki T, Tanemoto M, Abe T, Sato H, Yamamoto M, Ito S.

Luminal alkalinization attenuates proteinuria-induced oxidative damage in proximal tubular cells. *J Am Soc Nephrol*. 2011 Apr;22(4):635-48. 査読有

2. Tanemoto M, Takeuchi Y, Mishima E, Suzuki T, Abe T, Ito S.

Stage of chronic kidney disease is an outcome-predicting factor of angioplasty for atheromatous renal artery stenosis. *Hypertens Res*. 2010 Nov;33(11):1206-10. 査読有

3. Saigusa D, Suzuki N, Takahashi M, Shiba K, Tanaka S, Abe T, Hishinuma T, Tomioka Y.

Simultaneous determination of guanidinosuccinic acid and guanidinoacetic acid in urine using high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry.

Anal Chim Acta. 2010 Sep 16;677(2):169-75. 査読有

4. Toyohara T, Akiyama Y, Suzuki T, Takeuchi Y, Mishima E, Tanemoto M, Momose A, Toki N, Sato H, Nakayama M, Hozawa A, Tsuji I, Ito S, Soga T, Abe T.

Metabolomic profiling of uremic solutes in CKD patients.

Hypertens Res. 2010 Sep;33(9):944-52. 査読有

5. Yamaguchi H, Sugie M, Okada M, Mikkaichi T, Toyohara T, Abe T, Goto J, Hishinuma T, Shimada M, Mano N. Transport of estrone 3-sulfate mediated by organic anion transporter OATP4C1: estrone 3-sulfate binds to the different recognition site for digoxin in OATP4C1.

Drug Metab Pharmacokinet. 2010;25(3):314-7. 査読有

6. Abe M, Toyohara T, Ishii A, Suzuki T, Noguchi N, Akiyama Y, Shiwaku H, Nakagomi-Hagihara R, Zheng G, Shibata E, Souma T, Shindo T, Shima H, Takeuchi Y, Mishima E, Tanemoto M, Terasaki T, Onogawa T, Unno M, Ito S, Takasawa S, Abe T.

The HMG-CoA reductase inhibitor pravastatin stimulates insulin secretion through organic anion transporter polypeptides.

Drug Metab Pharmacokinet. 2010;25(3):274-82. 査読有

7. Miyazawa N, Abe M, Souma T, Tanemoto M, Abe T, Nakayama M, Ito S.

Methylglyoxal augments intracellular oxidative stress in human aortic endothelial cells.

Free Radic Res. 2010 Jan;44(1):101-7. 査読有

8. Toyohara T, Suzuki T, Morimoto R, Akiyama Y, Souma T, Shiwaku HO, Takeuchi Y, Mishima E, Abe M, Tanemoto M, Masuda S, Kawano H, Maemura K, Nakayama M, Sato H, Mikkaichi T, Yamaguchi H, Fukui S, Fukumoto Y, Shimokawa H, Inui K, Terasaki T, Goto J, Ito S, Hishinuma T, Rubera I, Tauc M, Fujii-Kuriyama Y, Yabuuchi H, Moriyama Y, Soga T, Abe T.

SLC04C1 transporter eliminates uremic toxins and attenuates hypertension and renal inflammation.

J Am Soc Nephrol. 2009 Dec;20(12):2546-55. 査読有

9. Tanemoto M, Suzuki T, Abe M, Abe T, Ito S.

. Hemodynamic index of atheromatous renal artery stenosis for angioplasty.

Clin J Am Soc Nephrol. 2009 Mar;4(3):651-5. 査読有

10. Tanemoto M, Suzuki T, Abe M, Abe T, Ito S.

Physiologic variance of corticotropin affects diagnosis in adrenal vein sampling.

Eur J Endocrinol. 2009 Mar;160(3):459-63. 査読有

11. Tanemoto M, Abe M, Uruno A, Abe T, Ito S.

Angiographic index for angioplasty-treatable atheromatous renal artery stenosis.

Hypertens Res. 2008 May;31(5):881-5. 査読有

[学会発表] (計 19 件)

1. 鈴木健弘、阿部高明

尿管排泄機構と尿毒症物質：トランスポーター発現制御による腎不全治療第 31 回日本臨床薬理学会年会 シンポジウム 9 「トランスポーター研究の臨床薬理」 2010 年 12 月 1 日国立京都国際会館(京都市)

2. 鈴木健弘、阿部高明

Up-regulation of SLC04C1 uremic toxin transporter expression and function by statins for therapeutics of chronic kidney disease

Renal week 2010, American Society of Nephrology

2010 年 11 月 20 日 Colorado convention center, Denver, Colorado, USA

3. 鈴木健弘、阿部高明

尿毒症物質排泄を担う腎臓特異的有機アニオントランスポーター SLC04C1 のスタチンによる発現誘導効果の検討

第 33 回日本高血圧学会総会 2010 年 10 月 15 日福岡国際会議場(福岡市)

4. 鈴木健弘、阿部高明

UREMIC TOXIN TRANSPORTER SLC04C1 IS ENHANCED BY STATINS

第 25 回薬物動態学会年会 2010 年 10 月 7 日大宮ソニックシティ(さいたま市)

5. 鈴木健弘、阿部高明

腎臓尿管特異的有機アニオントランスポーター SLC04C1 の発現制御による腎不全治療

第1回分子腎臓フォーラム2010年9月4日ベルサール八重洲(東京都)

6. 鈴木健弘、阿部高明

Statins up-regulate SLC04C1 uremic toxin transporter expression in the kidney and enhance renal excretion of the uremic toxins第42回日本動脈硬化学会総会・学術集会2010年7月16日長良川国際会議場(岐阜市)

7. 鈴木健弘、阿部高明

尿細管排泄機構と尿毒症物質・薬物動態：トランスポーター発現制御による腎不全治療の可能性第5回トランスポーター研究会年会 シンポジウム1「トランスポーターと薬物動態」2010年7月10日東京医科大学病院臨床講堂(東京都)

8. 鈴木健弘、阿部高明

腎臓特異的有機アニオントランスポーターSLC04C1による腎不全物質排泄促進を介した高血圧と腎内炎症の改善第53回日本腎臓病学会学術総会2010年6月16日神戸国際会議場(神戸市)

9. 鈴木健弘、阿部高明

Statin-inducible uremic toxin transporter SLC04C1 prevents hypertension, Cardiomegaly and Renal Inflammation

International Society of Nephrology-NEXUS 2010

2010年4月16日国立京都国際会館(京都市)

[図書] (計3件)

1. 鈴木健弘、豊原敬文、阿部高明、中外医学社、「Annual Review 腎臓 2011」、2011、pp247-256

2. 鈴木健弘、阿部高明、羊土社、「完全版マウス・ラット疾患モデル活用ハンドブック」、2011、pp343-360

3. 阿部高明、鈴木健弘、医学書院、「今月の診断指針 第6版」、2010、pp1053-2054

[産業財産権]

○出願状況 (計5件)

1. 名称：GATA 阻害剤を有効成分とする有機イオントランスポーター発現増強剤及びGATA 発現抑制剤

発明者：阿部高明、曾我朋義

権利者：東北大学

種類：特許

番号：特願2010-263955

出願年月日：平成22年11月26日

国内外の別：国内

2. 名称：透析膜の評価方法

発明者：阿部高明、中山昌明、曾我朋義

権利者：東北大学

種類：特許

番号：特願2010-261678

出願年月日：平成22年11月24日

国内外の別：国内

3. 名称：染色体優性多発性膿胞腎の判定方法および予防

発明者：阿部高明、長尾静子、曾我朋義

権利者：東北大学

種類：特許

番号：特願2010-261665

出願年月日：平成22年11月24日

国内外の別：国内

4. 名称：内因性エリスロポエチン発現増強剤及び有機イオントランスポーター発現増強剤

発明者：阿部高明、曾我朋義

権利者：東北大学

種類：特許

番号：特願2010-231709

出願年月日：平成22年10月14日

国内外の別：国内

5. 名称：ヒトにおける新たな腎疾患マーカー物質

発明者：阿部高明

権利者：東北大学

種類：特許

番号：PCT/JP2010/5434

出願年月日：平成22年9月3日

国内外の別：国外

[その他]

ホームページ等

<http://plaza.umin.ac.jp/~takaabe/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者：

阿部 高明 (ABE TAKAAKI)

東北大学・大学院医工学研究科・教授

研究者番号：80292209

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：