

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08269

研究課題名（和文）ニコチンアミドによる慢性腎臓病の治療・予防と新規治療薬の開発

研究課題名（英文）Prevention and treatment of chronic kidney diseases by nicotinamide, development of novel drugs

研究代表者

高橋 信行（Takahashi, Nobuyuki）

東北大学・薬学研究科・教授

研究者番号：40588456

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）：腎臓は血液をろ過する糸球体と濾過液の水電解質等を調節する尿細管からなる。慢性腎臓病は成人の8人に1人が罹患する新たな国民病であるが、進行性の病気であり、有効な治療法はない。ビタミンB3であるニコチンアミドは慢性腎臓病モデルの1つであるアデニン誘発性腎症の発症予防に非常に有用であった。しかし、ニコチンアミドは完成したアデニン腎症を改善・回復せず、予想に反して骨はもろくなった。抗ガン剤のアドリアマイシンは多量の尿蛋白を示すネフローゼ症候群を伴う慢性腎臓病をもたらし、ニコチンアミドはその予防に非常に有用であった。また、ニコチンアミドはIgA腎症とその妊娠高血圧症候群の進行を抑制する傾向を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病は、進行性で腎不全となりうる疾患で、血液透析や腎移植などが必要となることがある。現在、慢性腎臓病を回復させることはできず、その進行を抑制し、心血管疾患の発症を避けることが治療目標である。慢性腎臓病のなかにはネフローゼ症候群やIgA腎症のようにステロイドや免疫抑制剤が治療に用いられるのが多くその副作用が問題になっている。ニコチンアミドでこれらの疾患を予防・治療することができれば、ステロイドや免疫抑制剤が不要になる可能性がある。少なくとも、ニコチンアミドをステロイドや免疫抑制剤と併用することによって、これらの副作用を軽減することが可能になると期待され、慢性腎臓病治療法の大きな進歩となる。

研究成果の概要（英文）：Kidney is composed of glomeruli and renal tubules. Blood is filtered in glomeruli, and the composition of the filtrate is controlled in renal tubules to keep homeostasis of the body fluid. Chronic kidney disease (CKD) is a disease affecting an entire nation, and one in eight adults suffers from it. CKD keeps progressing, and no fundamental treatment is established. Vitamin B3 nicotinamide prevented development and progression of adenine-induced CKD. But once it is established, nicotinamide did not reverse it. Moreover, different from what we expected nicotinamide made bones more fragile. Another CKD model we used is developed by an anti-cancer agent adriamycin. This model has a problem in the glomerular epithelial cells called podocytes, and causes severe proteinuria and CKD. Nicotinamide was very effective for preventing podocyte abnormality and glomerular sclerosis. Nicotinamide also slowed down the progression of IgA nephropathy.

研究分野：腎臓病学、妊娠高血圧症候群

キーワード：ニコチンアミド 慢性腎臓病 骨ミネラル代謝異常 ネフローゼ症候群 アドリアマイシン 妊娠高血圧症候群 IgA腎症

1. 研究開始当初の背景

申請者はニコチンアミドがアデニン投与による腎不全を予防することをマウスモデルを使って明らかにしたが、できあがった腎不全をニコチンアミドが治療することができるか、ニコチンアミドがこのモデルで、腎性貧血や腎性腎症を予防/改善できるか、不明である。ニコチンアミドは NAD となって ATP の産生を促すこと、抗炎症作用・抗酸化ストレス作用があることから、他の間質線維化を伴う腎臓病でニコチンアミドが腎不全の予防や治療に有効であることが推測されるが、不明である。

申請者は、ニコチンアミドが、妊娠高血圧腎症モデルマウスの母体高血圧・タンパク尿・妊娠維持・胎児発育不全のすべてを改善する初めての妊娠高血圧腎症治療薬であることを明らかにした¹。しかし、タンパク尿にはネフローゼ症候群のように治療によって腎不全になったり、ステロイドや免疫抑制剤を用いて治療することにより、その副作用(骨粗鬆症、腎毒性等)が問題になることが少なくない。従来、薬物療法は腎障害の進行を止めるのに不十分で、有効で副作用の少ない新たな治療薬の開発が切望されている。妊娠高血圧腎症以外の腎疾患のタンパク尿、特にネフローゼ症候群レベルのタンパク尿の治療にニコチンアミドが有効か否か不明である。

G タンパク質 (G_s, G_i, G_q, の 3 グループ) 共役型受容体に作用する薬は市販薬の 3 割にもものぼる。G₁₂ タンパク共役型受容体の数は多いが、目的とする細胞で発現し、病態を予防・改善する G₁₂ 受容体を明らかにする方法は研究協力者の井上が近年報告している²

2. 研究の目的

ニコチンアミドが間質線維化や糸球体硬化による慢性腎臓病の予防・治療に有効な薬であるか、下記の項目の研究を行うことにより明らかにする。

(1) ニコチンアミドの間質線維化・慢性腎臓病・腎性貧血・腎性骨症の予防・改善効果を検証する。

(2) ニコチンアミドがポドサイト障害によるタンパク尿・糸球体硬化・慢性腎臓病を予防・改善するか明らかにする。ポドサイト障害を予防あるいは改善する G₁₂ タンパク共役型受容体がポドサイトに存在するか明らかにする。

3. 研究の方法

(1) ニコチンアミドの間質線維化による慢性腎臓病・腎性貧血・腎性骨症の予防・改善効果の検証を行う。アデニン誘発性腎症は貧血・骨症をおこすことが知られているが、ニコチンアミドの効果は不明である。ニコチンアミドは、腎臓の線維化を抑制するため、エリスロポエチン産生能・ビタミン D 活性化能を保つ、あるいは回復することによって腎性貧血・腎性骨症の予防・改善効果があると考えられる。この仮説をマウスモデルを用いて検証する。腎性骨症の評価はマイクロ CT を用いてニコチンアミドの効果を明らかにする。

(2) アドリアマイシンによって誘発されるネフローゼ症候群と腎硬化をニコチンアミドが予防・改善するか、また、その機序についてマウスモデルおよび糸球体上皮細胞ポドサイトの培養を用いて明らかにする。

必要な時期にポドサイト特異的に遺伝子改変 G₁₂ タンパク共役型受容体を活性化させることができるマウスを作成する。アドリアマイシンを用いて、ポドサイト障害を予防あるいは改善する G₁₂ タンパク共役型受容体がポドサイトに存在するか明らかにする。

4. 研究成果

(1) ニコチンアミドの間質線維化・慢性腎臓病・腎性貧血・腎性骨症への効果

ニコチンアミドはアデニン誘発性腎症を予防した(アデニン、ニコチンアミド、あるいは両者を 6 週間投与による)。しかし、腎症が確立した後にニコチンアミドを投与(アデニンを 6 週間投与してアデニン誘発性腎症が確立した後にニコチンアミドを 4 週間投与)した場合、アデニン誘発性腎症が回復することはなかった。同様にミネラル骨代謝異常もニコチンアミドが予防したが、腎症が確立してからニコチンアミドを投与してもミネラル骨代謝異常が回復することはないと考えられた。マイクロ CT によって脛骨の解析を行ったところ、ニコチンアミドはミネラル骨代謝異常を予防した(図 1 左)。しかし、予想に反し、腎症が確立した後にニコチン

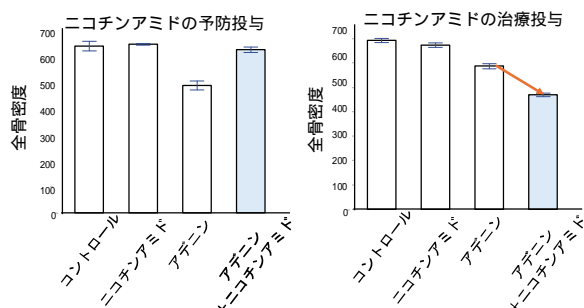


図 1 ニコチンアミドをアデニンと同時に開始した予防投与(左)およびニコチンアミドをアデニン腎症確立後に投与した治療投与(右)における脛骨全骨密度

アミドを投与すると全骨密度および骨塩量がアデニン投与のみの場合よりもさらに低下し、ニコチンアミドはアデニン誘発性腎症のミネラル骨代謝異常を悪化させることが明らかとなった(図1右)。その機序として、ビタミンDの活性化異常の関与が考えられたので下記の検討を行った。また、ニコチンアミドが腸での無機リンの吸収を抑制することが関与している可能性も否定できない。

2週間アデニン食を与えたマウスでは正常食を与えたマウスと比較して腎臓でのエリスロポエチン発現は有意に低値を示した。ビタミンD活性化の律速段階である1-ヒドロキシシラーゼ *Cyp27b1* は近位尿細管に発現している。近位尿細管を障害するアデニン腎症により、1-ヒドロキシシラーゼの発現は低下すると考えられた。しかし、予想に反して、約2倍に増加していた。1-ヒドロキシシラーゼ発現の調節には多数の因子が関与した複雑なものと考えられ、今後の検討を要する。

ニコチンアミドはヒストン脱メチル化酵素 JMJD1A を活性化させて、遺伝子発現をエピジェネティックに調節することが予想された。しかし、腎臓の免疫染色からは JMJD1A によるメチル化されたヒストン3・リジン9 (H3K9me2) の脱メチル化(H3K9me2の減少)を示唆する結果は6週間アデニンを投与して作成したアデニン誘発性マウスの腎臓からは得られなかった。これは H3K9me2 による染色が本研究では非常に少なかったためによると考えられた。アデニン投与開始後早期の観察によりこの問題が解決できる可能性は否定できない。

ニコチンアミドは IgA 腎症 *gddY* マウスの腎障害、妊娠高血圧腎症の進行を抑制する傾向を呈した。IgA 腎症の病態には apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) が関与していることが近年明らかにされているが³、今回の検討では、ニコチンアミドによる腎臓 AIM 発現の減少は明らかでなかった。さらなる検討が必要である。

(2) ニコチンアミドのポドサイト障害によるネフローゼ症候群予防効果

抗ガン剤のアドリアマイシンをマウスに投与すると、多量の尿蛋白と糸球体硬化を呈する慢性腎臓病(巣状分節性糸球体硬化症)をもたらす。ニコチンアミドはその予防に非常に有用であった。即ち、正常 Balb/c マウスでは尿タンパクを認めないが、アドリアマイシン投与1週間後には多量の尿蛋白を認めた(図2)。ニコチンアミドにより尿蛋白はアドリアマイシン単独の時と比して、約10%に減少した。また、アドリアマイシンによる糸球体上皮細胞ポドサイトの異常もニコチンアミドで改善した。

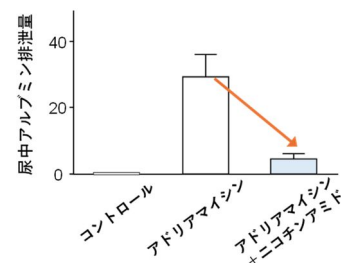


図2 ニコチンアミドはアドリアマイシンによる尿蛋白を減少させた

ポドサイト細胞株を用いた検討では、マウスを用いた実験結果と異なり、アドリアマイシンによるポドサイト障害はニコチンアミドで改善しなかった。そこで、ニコチンアミドから合成される NAD をポドサイト培養細胞に投与したところ、アドリアマイシンによる細胞毒性は改善した。したがって、ニコチンアミドのアドリアマイシン誘発性ネフローゼ症候群改善作用は、ニコチンアミドから合成された NAD によることが示唆された。ポドサイト障害を予防あるいは改善する G12 タンパク質共役型受容体があるか、スクリーニングするためのマウスの準備を行った。アドリアマイシンによる腎障害の予防あるいは改善を指標として受容体のスクリーニングを進めていく。

<引用文献>

- Li F, Fushima T, Oyanagi G, Townley-Tilson HWD, Sato E, Nakada H, Oe Y, Hagaman JR, Wilder J, Li M, Sekimoto A, Saigusa D, Sato H, Ito S, Jennette JC, Maeda N, Karumanchi SA, Smithies O, Takahashi N (corresponding). Nicotinamide benefits both mothers and pups in two contrasting mouse models of pre-eclampsia *Proc Natl Acad Sci USA* 2016 113: 13450-13455 DOI: [10.1073/pnas.1614947113](https://doi.org/10.1073/pnas.1614947113) 9.66
- Inoue A, Raimondi F, Marie Ngako Kadji IF, Singh G, Kishi T, Uwamizu A, Ono Y, Shinjo Y, Ishida S, Arang N, Kawakami K, Silvio Gutkind J, Aoki J, Russell RB. Illuminating G-Protein-Coupling Selectivity of GPCRs *Cell*. 2019 June 13; 177(7): 1933–1947.e25. doi:10.1016/j.cell.2019.04.044.
- Takahata K, Arai S, Hiramoto E, Kitada K, Kato R, Makita Y, Suzuki H1, Nakata J, Araki K, Miyazaki T and Suzuki Y. Crucial Role of AIM/CD5L in the Development of Glomerular Inflammation in IgA Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2020 31(8):2013-2024

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Oe Y, Miyazaki M, Takahashi N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Tissue Factor, Thrombosis, and Chronic Kidney Disease.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines10112737	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Todoriki S, Hosoda Y, Yamamoto T, Watanabe M, Sekimoto A, Sato H, Mori T, Miyazaki M, Takahashi N, Sato E	4. 巻 7
2. 論文標題 Methylglyoxal Induces Inflammation, Metabolic Modulation and Oxidative Stress in Myoblast Cells.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Toxins (Basel)	6. 最初と最後の頁 21-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/toxins14040263	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 高橋信行	4. 巻 11
2. 論文標題 HDPの腎障害を再考する 妊娠高血圧腎症マウスモデルを用いたニコチンアミドによる薬物療法の開発	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 腎と透析	6. 最初と最後の頁 777-779
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 高橋信行	4. 巻 15(3)
2. 論文標題 妊娠高血圧症候群5) 妊娠高血圧腎症治療の新規アプローチ	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 腎臓内科	6. 最初と最後の頁 266-270
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Kumakura S, Sato E, Sekimoto A, Hashizume Y, Yamakage S, Miyazaki M, Ito S, Harigae H, Takahashi N.	4. 巻 13
2. 論文標題 Nicotinamide Attenuates the Progression of Renal Failure in a Mouse Model of Adenine-induced Chronic Kidney Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Toxins	6. 最初と最後の頁 50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/toxins13010050	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shu Yamakage, Yuji Oe, Emiko Sato, Koji Okamoto, Akiyo Sekimoto, Satoshi Kumakura, Hiroshi Sato, Mai Yoshida, Tasuku Nagasawa, Mariko Miyazaki, Sadayoshi Ito, Nigel Mackman, and Nobuyuki Takahashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Myeloid cell-derived coagulation tissue factor contributes to uremic kidney injury in mice fed an adenine diet	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 12159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-91586-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yuji Oe, Mariko Miyazaki, Nobuyuki Takahashi	4. 巻 255
2. 論文標題 Coagulation, protease-activated receptors, and diabetic kidney disease: Lessons from eNOS-deficient mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tohoku J Exp Med	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1620/tjem.255.1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takaya Handa, Keita P. Mori, Akira Ishii, Shoko Ohno, Yugo Kanai, Haruko Watanabe-Takano, Akihiro Yasoda, Takashige Kuwabara, Nobuyuki Takahashi, Naoki Mochizuki, Masashi Mukoyama, Motoko Yanagita, Hideki Yokoi	4. 巻 11
2. 論文標題 Osteocrin Ameliorates Adriamycin Nephropathy via p38 Mitogen-Activated Protein Kinase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 2135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-01095-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高橋信行
2. 発表標題 妊娠高血圧腎症マウスモデルを用いたニコチンアミドによる薬物療法の開発
3. 学会等名 第44回東北薬学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋信行
2. 発表標題 マウスモデルを用いた妊娠高血圧腎症(preeclampsia, PE)の薬物療法の開発
3. 学会等名 日本臨床化学会 ICCC（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋信行
2. 発表標題 HDPの腎障害を再考する 妊娠高血圧腎症マウスモデルを用いたニコチンアミドによる薬物療法の開発
3. 学会等名 腎と妊娠研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋信行 白井英和 佐藤恵美子 堰本晃代 大江佑治 伊藤貞嘉 佐藤博
2. 発表標題 アルドステロンが体脂肪量に与える効果
3. 学会等名 第34回 腎と脂質研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋信行
2. 発表標題 PEのニコチンアミド治療マウスモデルを用いて
3. 学会等名 腎と妊娠研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 高橋信行	4. 発行年 2021年
2. 出版社 メジカルビュー社	5. 総ページ数 247
3. 書名 妊娠高血圧症候群の診療指針 2021	

〔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	佐藤 恵美子 (Sato Emiko) (20466543)	東北大学・薬学研究科・准教授 (11301)	
研究分担者	堰本 晃代 (Sekimoto Akiyo) (40781745)	東北大学・薬学研究科・助手 (11301)	

	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
研究協力者	高橋 慧 (Takahashi Kei)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	井上 飛鳥 (Inoue Asuka)		
研究協力者	鈴木 祐介 (Suzuki Yusuke)		

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