

第 37 回腎臓セミナー・Nexus Japan プロシーディング

シンポジウム

疾患モデル動物：病態解明と創薬研究における有用性と限界を知る

多発性嚢胞腎 (PKD)

Polycystic kidney disease

西尾 妙 織

Saori NISHIO

はじめに

多発性嚢胞腎は遺伝性腎疾患のなかで患者数が最も多く、常染色体劣性遺伝性 (autosomal recessive polycystic kidney disease : ARPKD) と常染色体優性遺伝性 (autosomal dominant polycystic kidney disease : ADPKD) とに大別される。

多発性嚢胞腎の疾患モデル動物は古くから自然発症モデルが報告され、その後 ADPKD の原因遺伝子である *Pkd1*, *Pkd2* のコンベンショナルノックアウトマウスが報告された。しかし、自然発症モデルは原因遺伝子がヒトの原因遺伝子と異なっていること、コンベンショナルノックアウトマウスは胎生致死であることなどから、ADPKD の真のモデル動物とは異なっていた。

2000 年に入り、*Pkd1*, *Pkd2* のコンディショナルノックアウトマウスが報告されるようになって以降、嚢胞形成メカニズムの解析が急速に進み、これらの動物に薬物投与を行った成果が報告されるようになった。しかしながら、現在臨床応用されている薬剤はバソプレシン V₂ 受容体拮抗薬であるトルバプタンのみである。これは、モデル動物で有効であってもヒトでの有効性を示すのは容易ではないことの現われである。本稿では、多発性嚢胞腎モデル動物と現在解明されている嚢胞形成メカニズム、今後の展望について述べたい。

多発性嚢胞腎とは

多発性嚢胞腎は常染色体劣性遺伝性 (ARPKD) と常染色体優性遺伝性 (ADPKD) とに大別される。

ARPKD は *PKHD1* (6p21.1-p12) を原因遺伝子とし、集合管の拡張と胆管異形成および肝内門脈周囲線維化を含む肝病変を特徴とする。頻度は 10,000 ~ 40,000 人に 1 人と推測されており、重症肺低形成を伴う新生児以外は長期生存が可能であることが明らかになっているが、末期腎不全を呈することが多い。ADPKD は、両側腎臓に多数の嚢胞が進行性に発生・増大し、さらに高血圧や、肝嚢胞、脳動脈瘤などを合併し、60 歳までに約半数が末期腎不全に至る最も頻度の高い遺伝性腎疾患である。原因遺伝子として *PKD1* (16p13.3) と *PKD2* (4q21) が同定されており、85% が *PKD1* 遺伝子の変異、15% が *PKD2* 遺伝子の変異とされている。*PKD1* の遺伝子産物であるポリシスチン 1 (PC1) は 4,303 個のアミノ酸から成る 11 回膜貫通蛋白であり、N 末端が細胞外に、C 末端が細胞内に存在する。*PKD2* 遺伝子は 15 個のエクソンから成り、そのサイズは 5.4kb である。*PKD2* の遺伝子の産物であるポリシスチン 2 (PC2) は 968 個のアミノ酸から成り N 末端、C 末端ともに細胞内に存在する 6 回膜貫通蛋白である (図 1)¹⁾。PC1 と PC2 は細胞内領域の Coiled-coil ドメインで結合しており、尿流を感知する機械的センサーの働きを持つ PC1 からカルシウムイオンチャネルの働きを持つ PC2 へシグナルが伝達され、細胞内に Ca²⁺ を流入させる。

ARPKD の疾患特異的治療は確立されておらず、個々の

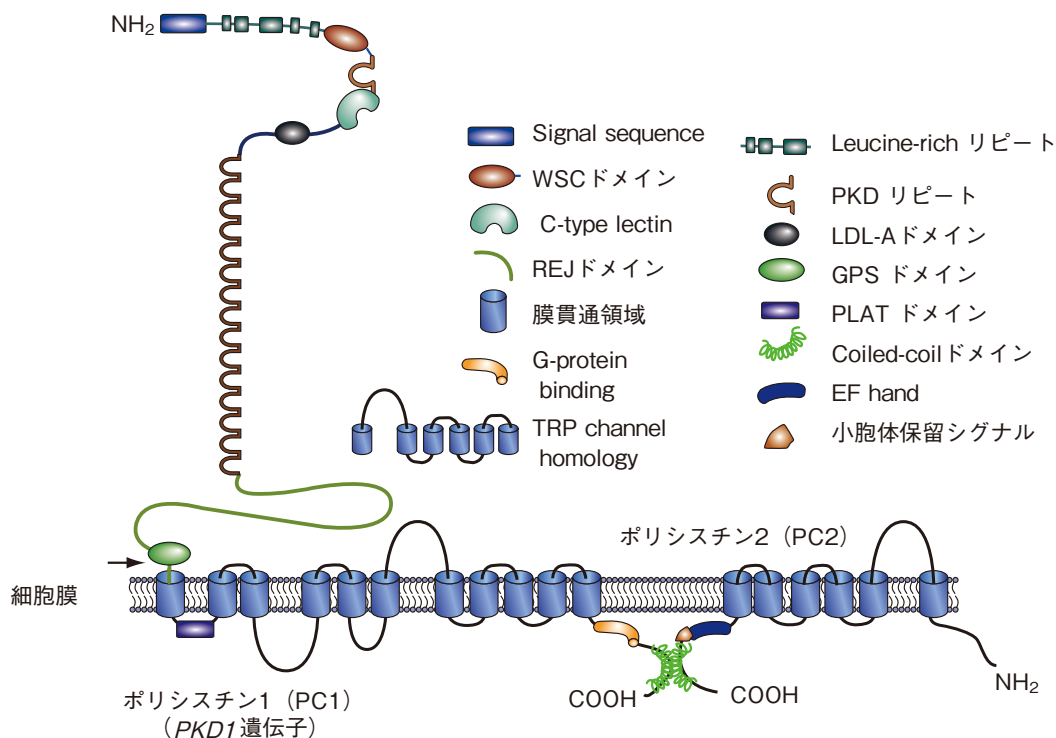


図1 ポリシスチン1(PC1)とポリシスチン2(PC2)の構造

表 自然発症嚢胞性腎疾患モデル動物

種類	名前	遺伝子	遺伝形式	遺伝子産物	表現型
ラット	PCK	<i>Pkhd1</i>	常劣	fibrocystin/polyductin	嚢胞腎, 嚢胞肝
	Cy	<i>Pkdr1/Anks6/Nphp16</i>	常優	Nephronophthisis (NPHP)	嚢胞腎
マウス	pcy	<i>Nphp3</i>	常劣	Nephrocystin-3	嚢胞腎
	cpk	<i>Cys1</i>	常劣	Cystin	嚢胞腎
	jck	<i>Nek8/Nphp9</i>	常劣	Nek8/Nphp9	嚢胞腎
	bpk	<i>Bicc1</i>	常劣	Bicaudal C	嚢胞腎, 嚢胞肝
	orpk	<i>TgN737</i>	常劣	Polaris	嚢胞腎

症例に応じた対症療法が主体となる。ADPKDについてはこれまでは ARPKD と同様に対症療法しかなかったが、2014年3月にバソプレシン V₂ 受容体拮抗薬のトルバブタンが、疾患特異的治療薬として世界に先駆けてわが国で適応が承認された。

多発性嚢胞腎の疾患モデル動物

1. 自然発症モデル動物

古くから多くの自然発症モデル動物が存在し、PKDの研究に用いられてきた。表に代表的な自然発症モデル動物を示す。PCKラットは原因遺伝子がヒトARPKDとオーソロ

グな *Pkhd1* の変異による、進行が緩徐な表現型がADPKDに似ているモデルであり、多くの薬物投与実験の報告がなされている。Cyラットは *Anks6* (*Pkdr1* あるいは *Nphp16*) のミスセンス変異により起こり、Cy/Cyホモ接合体では病態が急速に進行するが、Cy/+のヘテロ接合体では病態の進行は緩やかである。雌雄で病態の進行に差があり、雄のほうが進行が速い。pcyマウスやcpkマウスなども原因遺伝子はADPKDやARPKDの遺伝子とは異なるが、広く病態解明や薬物投与研究のために使用されている。

2. 遺伝子組み換え動物

1990年代後半から、*Pkd1* あるいは *Pkd2* ノックアウトマウスが報告されるようになった。*Pkd1*^{+/-}マウスでは腎嚢

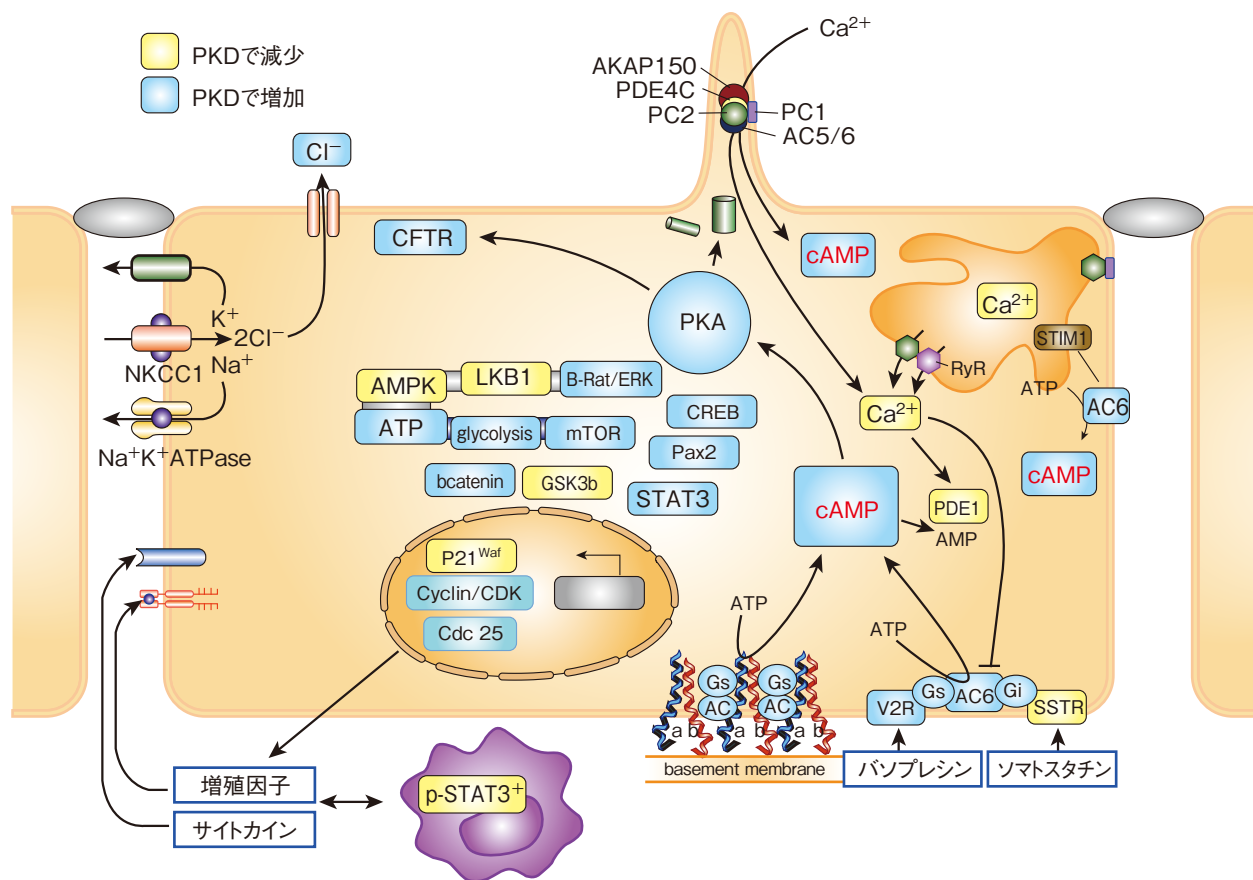


図2 ADPKD 進展の細胞内情報伝達

胞が生後9カ月を超えるまで形成されず²⁾, *Pkd1*^{-/-}マウスは胎生致死である³⁾。これは生殖細胞において一対の *PKD* 遺伝子の異常を受け継いでおり、次に体細胞において正常であるはずのもう一対の *PKD* 遺伝子に体細胞変異が起こるというツーヒット説を支持するなど、病態解析には使用できたが薬物投与実験には不向きであった。その後、Cre-loxP システムを使用したコンディショナルノックアウトマウスが報告されるようになり、臓器・時期特異的に *Pkd1* あるいは *Pkd2* がノックアウトできるようになったため、嚢胞形成機序の解析や薬剤投与研究が急激に進んだ。

多発性嚢胞腎の細胞内情報伝達経路

多発性嚢胞腎の嚢胞形成にかかわるさまざまな細胞内情報伝達経路が報告されている(図2)⁴⁾。特に cAMP(cyclic adenosine monophosphate)経路, AMPK(adenosine monophosphate-activated protein kinase)経路, mTOR(mammalian target of rapamycin)経路, CFTR(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)経路などの関与が多く報告されている。

最近では、炎症誘発経路(pro-inflammatory signaling pathways)や繊毛依存性経路(cilia-dependent pathway)などの概念も提唱されてきている。

1. cAMP 経路

PC1 あるいは PC2 が障害されると細胞内 Ca 濃度が低下し、cAMP の分解酵素であるホスホジエステラーゼ(PDE1)の活性を低下させ、cAMP の合成酵素であるアデニールサイクラーゼ(AC)活性の上昇を引き起こし、細胞内の cAMP の濃度が上昇する⁵⁾。さらに嚢胞上皮細胞では、尿濃縮力障害を伴うバソプレシンの増加により、バソプレシン V₂ 受容体を介して AC 活性が上昇し cAMP は増加する(図2)。多発性嚢胞腎モデル動物において cAMP が増加していることが報告され⁶⁾、cAMP の増加は protein kinase A (PKA) を介して嚢胞液の分泌の亢進、異常な細胞増殖を引き起こし嚢胞が増大する。

2. mTOR 経路

哺乳類ラパマイシン標的蛋白質(the mammalian target of rapamycin : mTOR)は細胞内情報伝達に関与するセリン・スレオニンキナーゼの一種である。

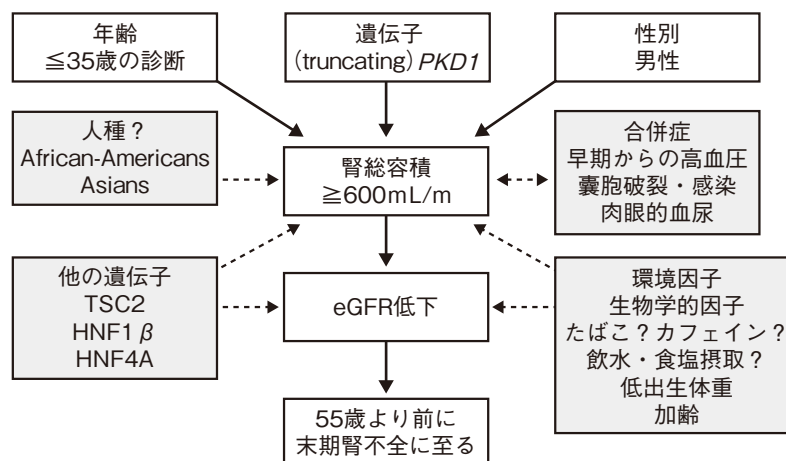


図3 ADPKDの疾患進行の予測に関連する因子

腎移植の際に mTOR 阻害薬を投与された ADPKD 患者の腎嚢胞が縮小したことから⁷⁾，多発性嚢胞腎の発症・進展に mTOR 活性が関与することが報告された。mTOR はインスリン様成長因子 (insulin-like growth factor : IGF)-1 やカスパーゼシグナルを介して PKD 細胞のアポトーシスにも関与することが報告されている⁸⁾。

3. 繊毛依存性経路 (cilium-dependent pathway)

嚢胞形成には，繊毛の機能異常あるいは繊毛の欠失が関与するとされている。しかし近年，繊毛が形成されないマウスと ADPKD モデルマウスである *Pkd1* あるいは *Pkd2* コンディショナルノックアウトマウスを交配したところ，繊毛がないマウスにおいて著明に嚢胞形成が抑制され，嚢胞の重症度はポリシスチンの欠失が起こってから繊毛が退縮するまでの時間の長さに関係することが報告された⁹⁾。この繊毛依存的な嚢胞増悪は，これまで重要とされていた MAPK/ERK 経路，mTOR 経路，cAMP 経路の活性化によっては説明されなかったことから，急速な嚢胞の成長を促進する新しい経路が存在することが示唆されている。

PKD モデル動物に対する薬物投与実験

PKD に対するバソプレシン V₂ 受容体拮抗薬の効果は 1999 年に cpk マウスで証明され，その後，PCK ラット (ARPKD モデル)，*pkd2*^{ws25/-} マウス (ADPKD モデル)，pcy マウス (ネフロン癆モデル) でさらに効果が証明され，臨床試験を経て最初の報告から 15 年後にようやく世界に先駆けてわが国にて ADPKD の適応として承認に至っている。一方，mTOR 阻害薬は Cy ラット (ネフロン癆モデル)，*Pkd1*

コンディショナルノックアウトマウス (ADPKD モデル) など有効であるとされたが，臨床試験の結果，ヒトでの有効性が示されず承認に至っていない。そのほか，ソマトスタチンアナログ，メトホルミン，トリプトライド，チロシンキナーゼ阻害薬など多数の薬剤が PKD モデル動物に投与され，嚢胞進行抑制に効果的であるという報告がされているが，現時点で臨床応用されている薬剤はない。このように，モデル動物で有効であってもヒトでの有効性を示すのは容易ではない。

モデル動物の限界

ヒトとモデル動物の差はどこにあるのだろうか。原因遺伝子が *PKD2* の患者では，*PKD1* の患者より嚢胞の進行が緩徐であることが知られている。多発性嚢胞腎患者の遺伝子解析を行った報告では，遺伝子変異型は終止コドン変異，欠失や挿入によるフレームシフト変異，ミスセンス変異など多彩であり，*PKD1* の truncating mutation ではより進行が速いとされている。また，進行の差に環境因子が影響しているという報告もある (図 3)¹⁰⁾。動物モデルで環境因子や遺伝子変異の違いについてすべて網羅するのは不可能であり，臨床研究のデータ蓄積と基礎研究での解析の両者がなくては新薬開発には結びつかないことはいままでもない。今後も Bedside to Bench, Bench to Bedside の双方向の研究を続けていけたらと考えている。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

1. Torres VE, Harris PC. Autosomal dominant polycystic kidney disease : the last 3 years. *Kidney Int* 2009 ; 76 : 149-168.
2. Lu W, Fan X, Basora N, et al. Late onset of renal and hepatic cysts in Pkd1-targeted heterozygotes. *Cell* 1996 ; 87 : 979-987.
3. Muto S, Aiba A, Saito Y, et al. Pioglitazone improves the phenotype and molecular defects of a targeted Pkd1 mutant. *Hum Mol Genet* 2002 ; 11 : 1731-1742.
4. Torres VE, Harris PC. Strategies targeting cAMP signaling in the treatment of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2014 ; 25 : 18-32.
5. Devuyst O, Torres VE. Osmoregulation, vasopressin, and cAMP signaling in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2013 ; 22 : 459-470.
6. Yamaguchi T, Nagao S, Kasahara M, et al. Renal accumulation and excretion of cyclic adenosine monophosphate in a murine model of slowly progressive polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 1997 ; 30 : 703-709.
7. Shillingford JM, Murcia NS, Larson CH, et al. The mTOR pathway is regulated by polycystin-1, and its inhibition reverses renal cystogenesis in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 5466-5471.
8. Edelstein CL. Mammalian target of rapamycin and caspase inhibitors in polycystic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008 ; 3 : 1219-1226.
9. Ma M, Tian X, Igarashi P, et al. Loss of cilia suppresses cyst growth in genetic models of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat Genet* 2013 ; 45 : 1004-1012.
10. Ong AC, Devuyst O, Knebelmann B, et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease : the changing face of clinical management. *Lancet* 2015 ; 385 : 1993-2002.