

第 39 回腎臓セミナー・Nexus Japan プロシーディング

YIA 受賞記念講演 2

メガリンを「入り口」とする腎障害の 機序の解析と予防法の開発

Development of prophylactic strategies for megalin-mediated kidney diseases

桑原 頌治

Shoji KUWAHARA

はじめに

日本の透析患者数は 30 万人を上回り、患者の QOL や医療経済上の重大な問題である。さらに慢性腎臓病(CKD)のみならず、急性腎障害(AKI)も生命予後に大きな影響を与える大きな要因となっている。したがって早期の診断と治療介入が望まれるが、いまだにそれらの病態機序に基づくバイオマーカーや抜本的な治療法は十分には確立されていない。われわれは、近位尿細管に発現するメガリンという分子に着目した腎臓病(AKI, CKD)の発症・進展機序の解明と、それを基盤とする新しい診断・治療法の確立を目指している。

エンドサイトーシス受容体メガリン

腎近位尿細管は物質の出納を司っており、メガリンもまた近位尿細管細胞の管腔側膜に発現し、多くのリガンド分子のエンドサイトーシス受容体として機能している。メガリンは LDL 受容体ファミリーに属しており、ラット膜性腎症モデルである Heymann 腎炎の責任抗原遺伝子としてクローニングされた¹⁾。細胞外領域にリガンド結合に関与する特徴的なリピート配列と、短い細胞内領域を持つ 1 回膜貫通型蛋白質である。糸球体を濾過する多くの蛋白質や薬剤などの細胞内への取り込みや代謝に関与している。

メガリンと CKD

われわれは、肥満・メタボリックシンドロームを伴う 2 型糖尿病モデルである高脂肪食負荷マウスにおいて、腎障害の発症・進展機序にメガリンが中心的な役割を担うことを報告した²⁾。このモデルマウスでは光学顕微鏡上、近位尿細管細胞の特に S2 領域に特徴的な空胞形成所見が認められた。この空胞はオートリソソームに由来することが明らかとなり、また、空胞所見を示す細胞においてオートファジー障害マーカーである p62 の蓄積が生じ、さらにオートリソソーム内部に過酸化脂質反応物や細胞老化物質の蓄積が認められた。これらのオートリソソーム障害をはじめとする腎障害の発症・進展におけるメガリンの役割を検討するために、腎特異的モザイク型メガリンノックアウトマウス(約 60%のノックアウト効率)を用いて同様に高脂肪食負荷を行った結果、メガリン欠損近位尿細管細胞では空胞形成が抑制されることを発見した。さらに、このモデルマウスでは空胞形成に加えて間質線維化、傍尿細管血管の希薄化、および血流障害、尿細管腔の狭窄、糸球体障害(糸球体肥大やメサンギウム基質の増加)をきたすが、いずれもノックアウトマウスでは軽減していた。これは、高脂肪食負荷によって誘導される尿細管-糸球体障害がメガリンに依存していることを示している(図 1)。

したがって、このような病態においては、メガリン発現または機能を適度に抑制する「メガリン抑制薬」が腎保護に有効であると考えられる。そのような作用を有する薬剤として Nrf2 活性化薬バルドキシロンメチルが知られてお

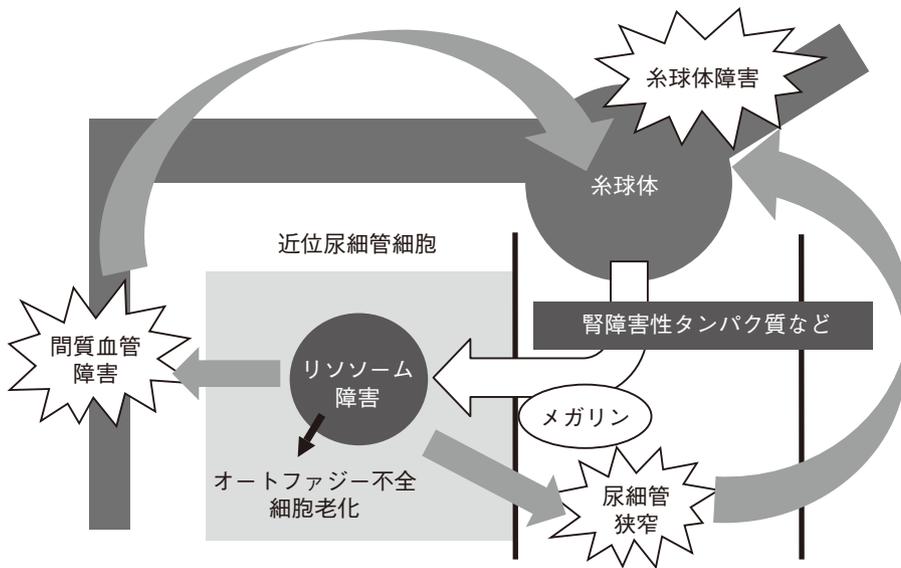


図1 高脂肪食負荷モデルにおけるメガリンを「入り口」としたCKDのメカニズム

高脂肪食負荷モデルでは腎障害性タンパク質の糸球体濾過が亢進する。それらはメガリンを入り口として近位尿細管細胞へ取り込まれ、リソソーム障害を起点としたオートファジー不全、細胞老化、間質血管障害、尿細管狭窄、そして糸球体障害が惹起される。

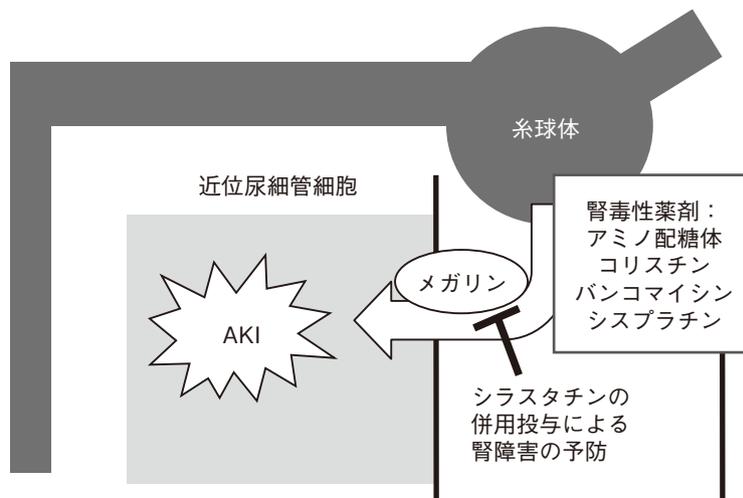


図2 メガリンを「入り口」とした薬剤性腎障害のメカニズムとシラスタチン(メガリン拮抗薬)によるその予防

腎毒性薬剤であるアミノ配糖体、コリスチン、バンコマイシン、シスプラチンはメガリンを入り口として近位尿細管細胞に取り込まれ、薬剤性腎障害(AKI)を起こす。シラスタチンがそれら薬剤とメガリンの結合を阻害することから、シラスタチン併用による腎障害の予防戦略が示された。

り³⁾、実際にCKDを合併する2型糖尿病患者に対する国内第II相臨床試験でGFR改善効果が示されている(http://www.kyowa-kirin.co.jp/news_releases/2016/pdf/20160523_01.pdf)。

メガリンとAKI

さらにわれわれは、AKIの一つである薬剤性腎障害におけるメガリンの関与とその予防法を明らかにした⁴⁾(図2)。薬剤性腎障害は重要な臨床的課題であり、抗菌薬や抗癌薬の使用に制限を強いる要因となっている。またCKD患者では更なる腎機能悪化のリスクがあり、それら薬剤の恩恵

にあずかれない場合もある。世界規模で問題となっているカルバペネム耐性腸内細菌などの多剤耐性菌は、有効な治療薬が乏しく予後不良である。現在その切り札としてコリスチンが使用されているが、腎障害の副作用があり、その発現頻度は40～50%にも上がることが報告されている。また、メチシリン耐性ブドウ球菌感染症の第一選択薬の一つであるバンコマイシンも腎毒性が問題となっている。さらに多くの悪性腫瘍の治療薬であるシスプラチンにおいても、使用患者の約30%がAKIを発症することが報告されている。

これらによる腎障害の発症機序は、薬剤の近位尿細管上皮細胞への取り込みと蓄積が原因として知られている。そ

表 従来までの腎障害性薬剤とメガリンの結合、およびシラスタチンによる腎毒性の抑制に関する報告

薬 剤	メガリンとの結合	シラスタチンによる腎毒性の抑制
ゲンタマイシン	既知	既知
コリスチン	既知	不明
バンコマイシン	不明	既知
シスプラチン	不明	既知
シラスタチン*	不明	—

*：腎毒性なし

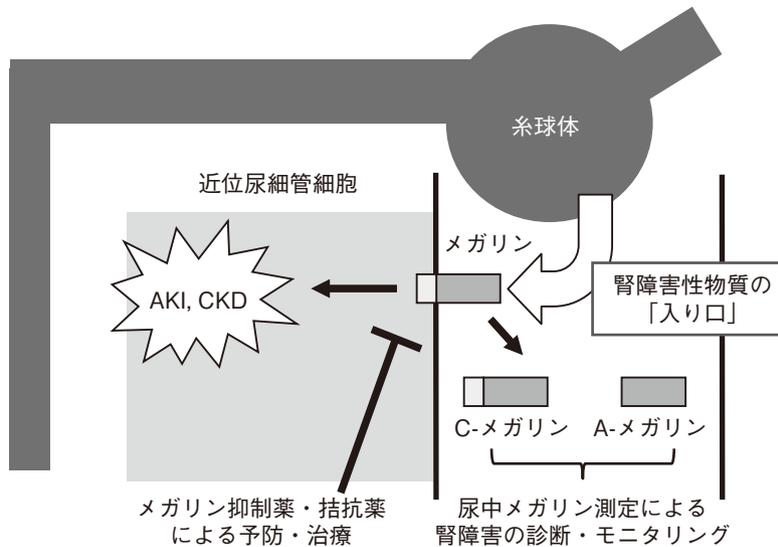


図3 メガリンを「入り口」とするAKI, CKD発症機序と、メガリン抑制・拮抗による新規予防・治療戦略

メガリンは近位尿細管細胞において糸球体を濾過した腎障害性物質の入り口として機能し、AKIとCKDのいずれにおいても重要な役割を担っている。そのため、ある種の病態においてメガリン抑制薬・拮抗薬が新たな予防・治療戦略となる。また、メガリンは病態に応じて尿中に排出されることから、尿中メガリンの測定が新規診断マーカーとして期待できる。

こでわれわれは、ゲンタマイシン、コリスチン、バンコマイシン、シスプラチンによる薬剤性腎障害の発症におけるメガリンを介した機序とともに、シラスタチンによるそれら薬剤とメガリンの結合阻害について検討した。表に示すように、ゲンタマイシンとコリスチンはメガリンと結合することが示されている。一方でバンコマイシン、シスプラチン、シラスタチンのメガリンとの結合性は不明であった。また機序が不明であったが、シラスタチンがゲンタマイシン、バンコマイシン、シスプラチンによる腎障害を抑制することが報告されていた。

われわれは、水晶発振子マイクロバランス(QCM)法を用いて上記薬剤とメガリンの結合性を評価した結果、ゲンタマイシンとコリスチン同様に、バンコマイシン、シスプラチン、そしてシラスタチンもメガリンと結合することを新たに証明した。さらに、腎特異的モザイク型メガリンノックアウトマウスにそれら薬剤を投与した検討においても、メガリンの発現が残存する近位尿細管細胞に特異的な細胞傷害所見(空胞形成、細胞融解など)が認められた。ま

た、KIM-1(腎障害マーカーの一つ)とメガリンの発現を検討する目的で腎組織を用いて二重染色した結果、各薬剤投与によりKIM-1発現が誘導され、そのKIM-1発現はメガリン残存細胞に限局していた。シラスタチンは腎臓のdehydropeptidase-I(DHP-I)阻害薬として開発され、抗菌薬イミペネムの腎代謝を抑制する目的で配合剤として長年安全に利用されている。QCM法を用いた検討で、シラスタチンが各薬剤とメガリンの結合を顕著に抑制することが明らかになり、また、マウスへの投与実験でもコリスチンによる腎障害がシラスタチンの併用により抑制されることが示された。これらの結果からわれわれは、シラスタチンを新たに「メガリン拮抗薬」として特許出願を行い、ドラッグリポジショニングとしての臨床応用を目指している。

以上、上記の腎障害性薬剤がメガリンを「入り口」として近位尿細管上皮細胞に取り込まれ腎障害を惹起する機序とともに、シラスタチンによってそれらの結合を阻害することによって薬剤性AKIを予防する新規戦略が示された(図2)。

おわりに

メガリンがクローニングされてから多くの研究が行われ、数多くのリガンドの同定やその機能が解析されてきた。われわれの近年の報告をはじめ新たなメガリンの役割が解明され、改めてその重要性が注目されている。CKD, AKI の治療ターゲットとしてだけでなく、今回は触れていないが、尿中バイオマーカーとして利用するための研究^{5,6)}も今後さらに発展させ、メガリンを入り口とする腎障害機序のより詳細な解明と、その病態に基づく新規診断・治療法の開発を目指した研究を展開したい。

謝 辞

最後に講座の斎藤亮彦教授をはじめ、すべての共同研究者、研究室のメンバー、そして関係の先生方に心より御礼申し上げます。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

1. Saito A, Pietromonaco S, Loo AK, et al. Complete cloning and sequencing of rat pg330/“megalin.” a distinctive member of the low density lipoprotein receptor gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 9725–2729.
2. Kuwahara S, Hosojima M, Kaneko R, et al. Megalin-mediated tubuloglomerular alterations in high-fat diet-induced kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2016 ; 27 : 1969–2008.
3. Reisman SA, Chertow GM, Hebbbar S, et al. Bardoxolone methyl decreases megalin and activates nrf2 in the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2012 ; 23 : 1663–1673.
4. Hori Y, Aoki N, Kuwahara S, et al. Megalin blockade with cilastatin suppresses drug-induced nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 2017 ; 28 : 1783–1791.
5. Ogasawara S, Hosojima M, Kaseda R, et al. Significance of urinary full-length and ectodomain forms of megalin in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2012 ; 35 : 1112–1118.
6. De S, Kuwahara S, Hosojima M, et al. Exocytosis-mediated urinary full-length megalin excretion is linked with the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Diabetes* 2017 ; 66 : 1391–1404.