

漢方薬およびその成分による慢性腎臓病 (chronic kidney disease) の 修復促進に関わる新規治療法の開拓

申請代表者 安部 秀斉 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授
腎臓内科学分野
所外共同研究者 安部 尚子 徳島大学病院 特任助教

【背景・目的】慢性腎臓病 (Chronic Kidney Disease, CKD) の概念が提唱され、進行性のCKDは不可逆的な糸球体硬化に陥り、遂には末期腎不全、透析導入へと進行するだけでなく、心筋梗塞・脳卒中といった心血管イベント・死亡の重要なリスクとなることが明らかになってきた。このような生命を脅かし、医療費の高騰を招くCKDの進展を抑制するために、より早期の診断と治療開始の重要性が認識されるようになってきている。それでも、本邦では残念ながら、毎年約1万人ずつのペースで、慢性維持透析が必要な患者が増加し続けており、すでに30万人に至ろうとしている。急性糸球体腎炎を代表とする腎炎症候群は適切な治療によって病変は回復する。膜性腎症はかなりの割合でネフローゼの状態から自然寛解をきたす。しかしながら、糖尿病やメタボリックシンドロームなどの生活習慣病が増加し続ける現代では、腎臓病もまた、これらを基とした腎血管の障害が進行している。そのもっとも顕著な現れが、糖尿病性腎症の増加である。すでに透析患者の最大の原因となっている。こうした問題の背景には、現在のステロイドやRAS系阻害剤などによる治療の不十分さが指摘される。

本研究代表者らは、糖尿病性腎症や糸球体腎炎が腎不全に至る過程の分子機序を、われわれは十数年にわたり解明に取り組み、ようやくその全貌を明らかにしてきた。腎不全に至る前段階では、糸球体硬化という細胞外基質の産生が亢進し、その結果糸球体血管が障害され、正常な血液の濾過機能が低下する。この糸球体硬化の発症を、転写因子Smad1が制御していること、Smad1のリン酸化・活性化にBMP4 (bonemorphogenetic protein 4)が最も重要な役割を担っていること、さらには不可逆的な変化に、BMP4-Smad1の下流でSox9という転写因子の発現が誘導されることをconditional transgenic マウス・knockoutマウスを用いて証明し、それと同時に、尿中Smad1がこうした分子病態の活性を反映することも示したこれまでに尿中アルブミンでは鑑別の困難であった糖尿病性腎症の発症の診断のためのバイオマーカーとして、尿中Smad1が有用であることを示してきた (J Biol Chem 279, 14201-6, 2004, J Biol Chem 279, 19816-23, 2004, Diabetes 57, 1712-22, 2008)。さらに、組織障害が進行し、不可逆的な糸球体硬化に至る過程で、Smad1の下流シグナルの分子であるScleraxisやSox9がBMP4により発現が誘導され病変形成を促進することを示した (J Biol Chem 286, 32162-9, 2011, J Biol Chem 286, 20109-16, 2011, Mol Cells 30, 209-18, 2010)。また、糸球体腎炎においても病変形成・進展に寄与する分子群 (Src, Tpbp, LRP1 など) を示した (Am J Nephrol 32, 505-521, 2010, PLoS One 22;6(3):e17929, 2011)。

こうした一連の分子病態の解析の過程で判明したことは、BMP4-Smad1-Sox9などの病態形成に深く関与する分子は、実は正常な腎の発生に必須の分子であるという事実であった。すなわち、糖尿病により障害された腎臓は、発生過程の分子機構が活性化し、障害部位の修復をすすめようとしている

る可能性がある。しかしながら、conditional transgenic マウスや knockout マウスによる解析で示されたように、BMP4-Smad1-Sox9 のシグナルの活性化が異常に亢進したり、あまりにも長期に継続されると、修復ではなく、病変形成に傾くことがわかった。臨床のこれまでの報告でも、回復が困難とされる糖尿病性腎症でさえも腎移植によって病変の寛解が示されている。すなわち、修復かつ病変形成の両方に寄与する BMP4-Smad1-Sox9 のシグナル伝達を長期的に調整する方法の開発は、不可逆的とされた糖尿病性腎症の薬物治療の可能性へとつながるものである。多くの CKD は何十年という経過を辿るが、この過程で成体の本来持つ修復機構を漢方薬およびその成分によって、促進・誘導することが可能となれば、腎不全・透析に至る前の段階、すなわち未病の段階での治療が可能になる。

【結果・考察】 本研究では、*in vitro* で、糸球体硬化に関わる、メサンギウム細胞を用いて、腎機能低下を誘導するシグナル伝達経路 BMP4-Smad1-Sox9 の発現抑制もしくは活性化抑制に有効な生薬由来化合物および生薬エキスのセットの中より探索・選定をすすめた。また、同時に各細胞の生死・増殖・形態の変化を顕微鏡下で経過観察し、各細胞に対する安全性を確認した。

これまでの一般的な理解では、Smad1 のリン酸化に関わる分子は BMP4 を含む TGF β superfamily のごく限られた分子だけであったが、今回の研究において、予想よりも相当多くの生薬由来化合物および生薬エキスによって、Smad1 のリン酸化や Smad1 自体の発現量、もしくは Smad1 の調節因子である Sox9 の発現量が制御されていた。

さらに新たな発見として、意外なほどに生薬由来化合物および生薬エキスによる、これらタンパク質の発現ないしは活性化の制御は一連の変化ではなく、シグナル伝達経路の一部にのみ影響をもたらしている可能性が示唆された。今回は、24 時間刺激という one point のみでの変化の解析であったため、経時的に発現量の変化を追えば、一連の変化が観察できる可能性はあるが、従来の刺激因子である BMP4 刺激によってはみられなかった変化であった（下図ならびに表）。



図 pSmad1 の発現量と鶏血藤による抑制効果

腎臓には本来、代謝異常や炎症に対して自身の力で回復するという修復機構が存在する。この BMP4-Smad1-Sox9 シグナル伝達経路は腎を含む正常発生にも重要であり、病態形成に深く関与すると同時に、修復機構にも関わっている可能性が高い。腎臓は肝臓や皮膚などと比較すると、その回復する能力は高くないため、無症状で経過する慢性腎臓病の多くは、不可逆的な腎不全に至るまで、原因治療ができないまま経過している。検診などで尿タンパクの異常などが指摘されても、糖尿病性腎症に対する RAS 系阻害剤や腎炎に対するステロイド・免疫抑制剤といった対症的な治療しかない。その結果、慢性腎不全患者・透析患者の増加に歯止めがかからない状況となっている。長期的な使用では副作用の問題も無視できない。そこで、体液の恒常性を担う臓器である腎臓の障害に対して、そのバランスを立て直そうとする新たな治療的アプローチが必要であったが、これまでは、その手掛かりは皆無であった。今回の結果より、漢方薬およびその成分には、恒常性を担う腎臓の機能を正常化

させる可能性が見出された。確かに、これまでも水毒・腎炎などに対する効果が示されている漢方薬もあるが、何十年という経過を辿る慢性腎臓病のどのステージに、どの薬・成分が最も効果があるかは不明であったが、糸球体硬化を制御する Smad1 を中心とした分子の発現を制御している可能性が今回確認され、従来の知見の、さらには新たな漢方薬やその成分による治療標的分子が、少なくとも一部わかり始めた。

今後、今回 BMP4-Smad1-Sox9 シグナル伝達経路に対する修飾能を有した成分による分子機序の詳細を解析すると、腎臓の本来有している修復機構をサポートすることによる腎不全・透析に至る前の治療への展開が開かれることとなる。さらには、慢性腎臓病では、脳卒中や心筋梗塞などが増え、生命予後が不良であることも知られているが、腎臓の本来の機能である体液の恒常性の維持を果たすことにより、老化や心血管事故をも予防することができると期待される。今回は、*in vitro* での解析で化合物・エキスを使い終えてしまったが、このスクリーニングにて有効性の確認ができた化合物等について、できれば *in vivo* での効果判定も行いたい。

また、顕微鏡下で、細胞の生死・増殖・形態の変化を経過観察したが、全化合物・エキス中の約 2% において、24 時間以内の細胞死が確認された。BMP4-Smad1 はがん細胞の増殖や幹細胞の維持に果たす役割など多様な機能が知られており、分野は異なるが、がん治療や幹細胞による再生医療への寄与の可能性も示唆された。

【結論】 漢方薬およびその成分による慢性腎臓病 (chronic kidney disease) の修復促進に関わる新規治療法樹立の可能性が見出された。