

総説 (第36回徳島医学会賞受賞論文)

新規細胞エネルギー代謝スクリーニングに基づいた急性腎障害予防薬／治療薬の探索と開発

岸 誠 司, 土 井 俊 夫

徳島大学病院腎臓内科 (検査部)

(平成28年6月28日受付) (平成28年7月5日受理)

はじめに

近年, 腎疾患が強力な心血管病のリスク因子であることが明らかとなり, 慢性腎臓病 (CKD) は新たな国民病として広く国民にも認識されることとなった。一方で, 従来急性腎不全として取り扱われてきた病態には標準的な診断基準が実は存在しておらず, その結果として臨床研究による頻度や予後に関する結果も試験ごとに異なり, 世界基準が存在していなかった。そこで, 急性腎不全に対する共通の理解を深め, 病態の解明を目指そうという機運が世界的に高まり, 腎臓医と集中治療医が中心となり国際的に Acute Kidney Injury (AKI) という病態が2004年に初めて定義された¹⁾。実際には糸球体濾過量が

低下してからの治療では手遅れの病態も多いため, より早期に診断しようという試みである。

実際の医療の現場では, 提供される医療の高度化, さらには高齢化社会の到来が重なって血液浄化療法を必要とするような重症 AKI が増加している²⁾ (図1 A)。これまで AKI はその予後は良好とされていたが, 近年の研究により AKI は心筋梗塞より予後が悪く³⁾, AKI を

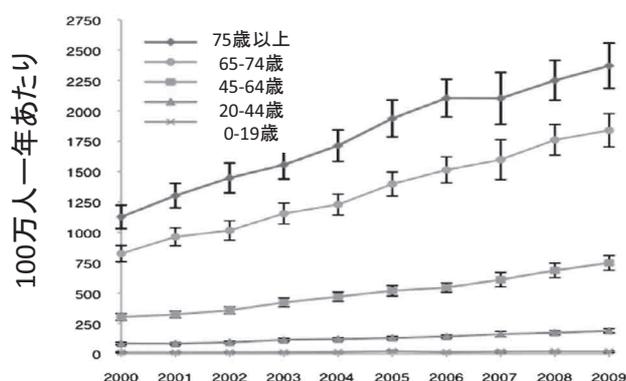


図1. AKIに関する最近の疫学的な知見
A. 血液浄化療法を必要とする急性腎障害の頻度
文献1. より引用改変

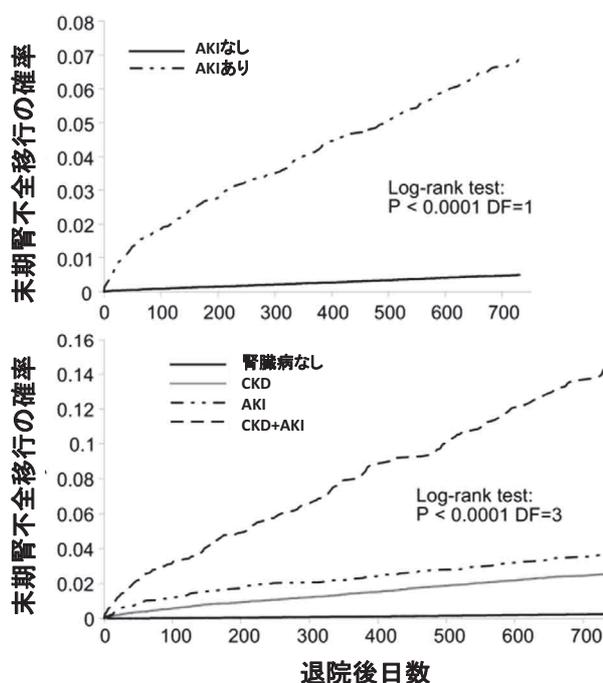


図1. AKIに関する最近の疫学的な知見
B. 末期腎不全のリスク因子としての AKI
文献3. より引用改変

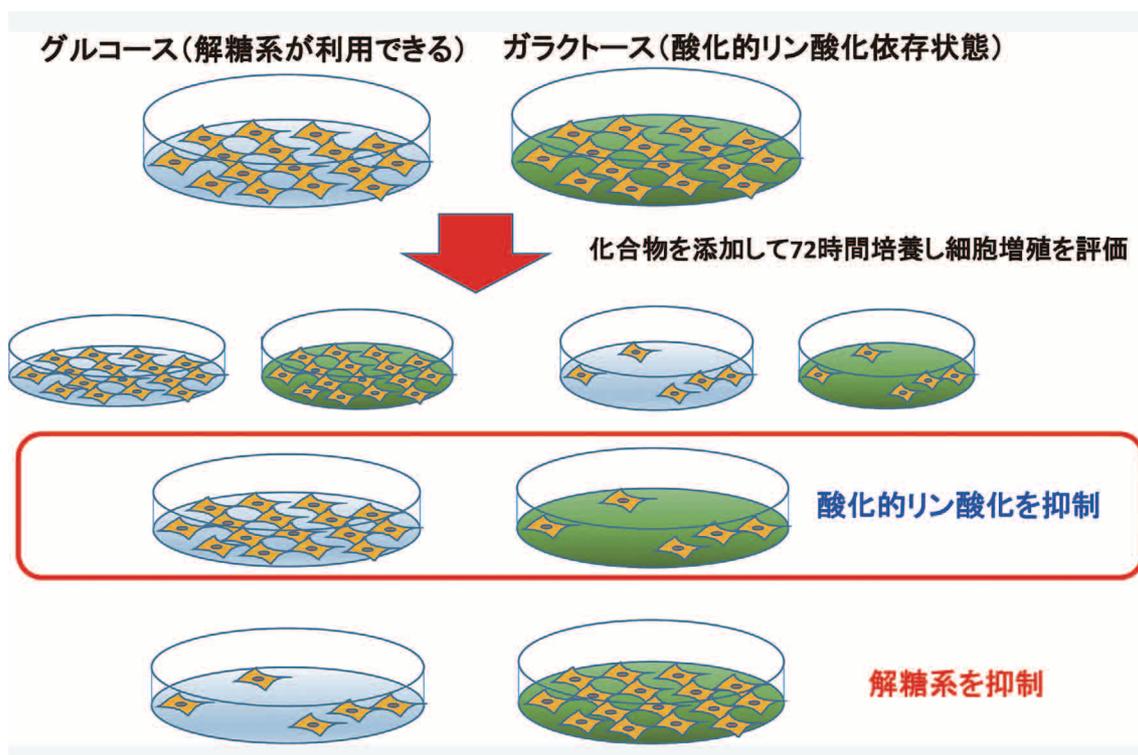


図2. エネルギー代謝に注目した化合物スクリーニング

発症した患者がCKDへと移行するリスクが著しく高まり、さらには将来的には末期腎不全に至る腎の予後も極めて悪い病態であることが明らかとなっている⁴⁾(図1B)。約半世紀の間、病態特異的な治療法開発は進んでおらず、心筋梗塞が診断(強力なバイオマーカーの確立)、治療技術において劇的な進歩を遂げたのとは対照的であったくといって良いレベルで改善がなく、AKI予防薬/治療薬の開発は急務である⁵⁾。

化合物スクリーニングと Meclizine の同定

AKIの最大の原因は虚血再灌流(IRI)による尿細管障害である。敗血症や心臓大血管手術後の腎障害や移植腎に起こる急性期拒絶反応等にIRIが関与する。虚血状態にある臓器・組織に血液再灌流が起こると、微小循環内において種々の毒性物質の産生が惹起され、臓器・組織は障害される⁶⁾。虚血・低酸素状態の細胞のATP産生をミトコンドリア依存的な酸化的リン酸化(OXPHOS)をマイルドに抑制(強力な抑制は細胞毒

性を発揮する)し、ATP産生機構を解糖系優位にシフトさせることは、活性酸素種(ROS)産生を抑制し、一方で細胞のATP産生を保持するためIRIによる臓器障害を軽減させる可能性がある。以前より、細胞培養における糖質をグルコースではなくガラクトースにすると細胞は生存に必要なATPを解糖系を利用して産生することができなくなり、結果としてOXPHOSに依存するようになることが知られている。筆者らのグループはこの性質を利用した化合物の新規スクリーニング系を確立し(図2)、この系に3500種類以上の候補化合物ライブラリーを用いてOXPHOSを抑制する化合物を抽出し、さらにDrug Repositioningの観点からすでに臨床で使用されている化合物からMeclizineという抗ヒスタミン剤を同定した⁷⁾。

Meclizineの腎保護効果

Meclizineが虚血再灌流によって生じるAKIに対して腎保護効果を示すメカニズムをvivoとvitroの多くの

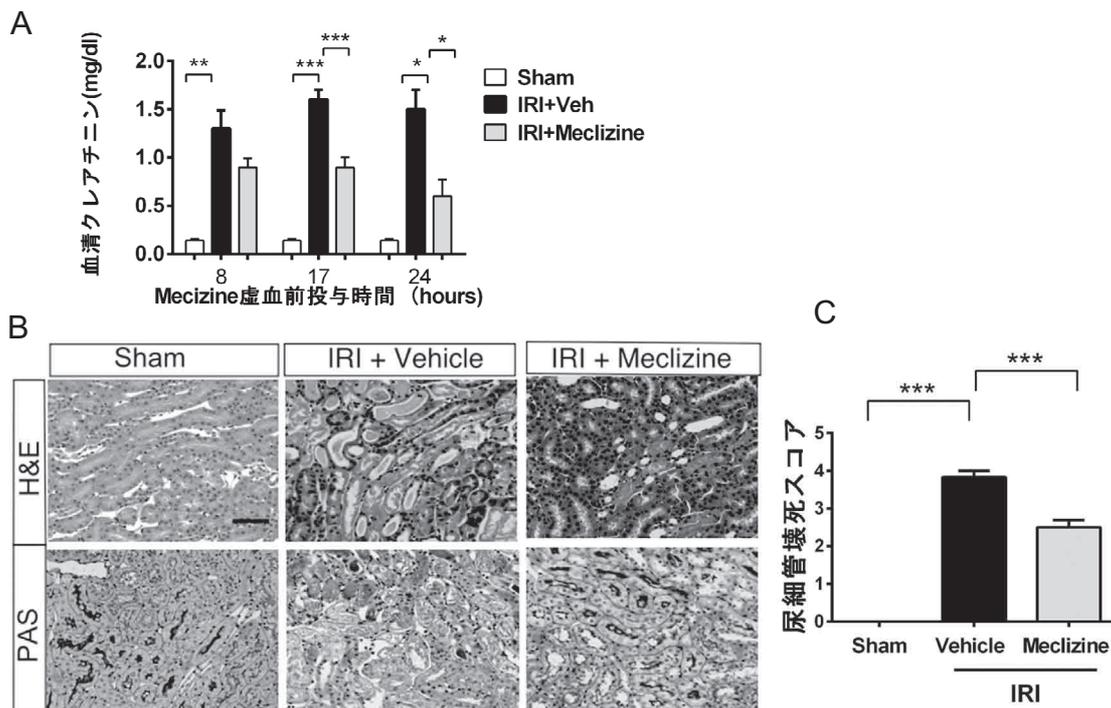


図3. Meclizine の虚血再灌流障害に対する腎保護効果
文献4. より引用, 一部改変

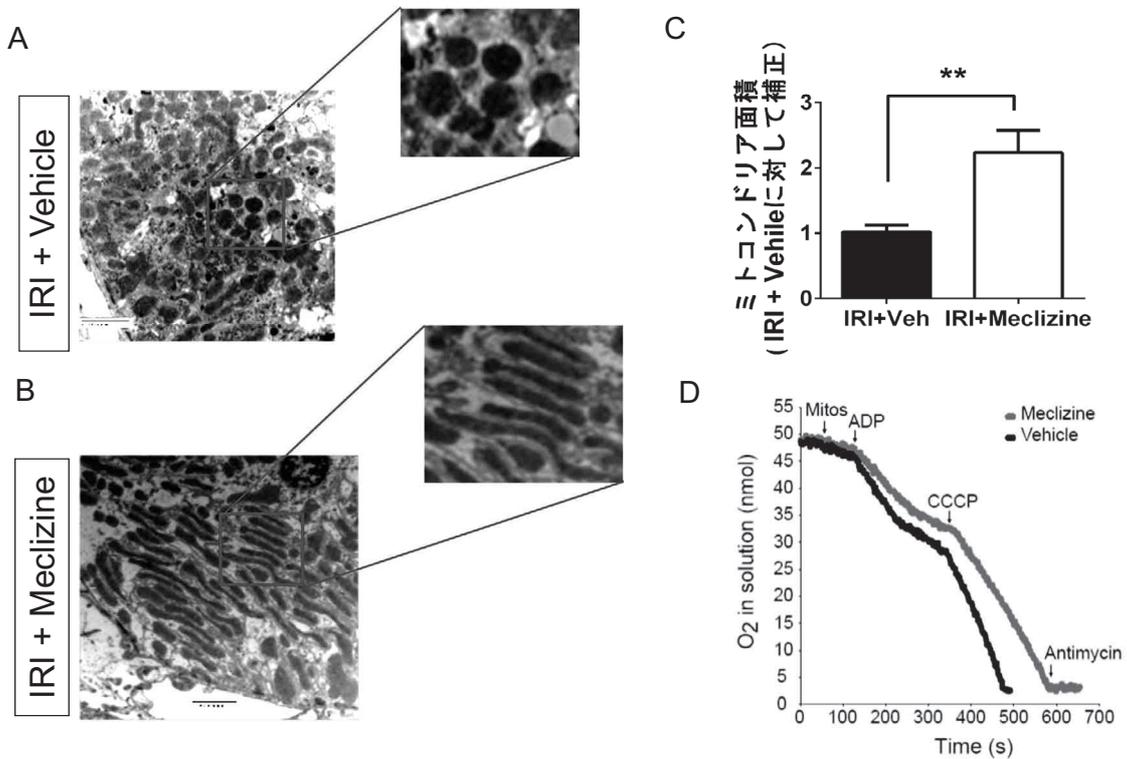


図4. Meclizine はミトコンドリアに作用する
文献4. より引用, 一部改変

実験で証明した。マウスに100mg/kgのMeclizineを17時間前に投与しておく、両側腎動脈虚血再灌流によって生じるAKIが軽減(24時間後の血清Cr値; 1.59 ± 0.10 mg/dl (vehicle, n = 8) vs 0.89 ± 0.11 mg/dl (meclizine, n = 8), $P < 0.001$)した。病理組織学的にもIRIによる尿細管壊死が軽減しており、腎組織の炎症ならびに炎症に続発する酸化ストレスマーカーの低下を認めた(図3)。

IRIによる尿細管の細胞死はミトコンドリアに制御されているが、ミトコンドリアの形態異常がそれを反映することが知られており、細胞死の運命をたどる際にはミトコンドリアが断片化する⁸⁾。Meclizine治療の有無による尿細管ミトコンドリアの形態の違いを電子顕微鏡で観察したところ、Meclizine治療群では尿細管ミトコンドリアの断片化が軽減していた(図4A)。さらに、実際にMeclizine前投与を行った後に腎臓からミトコンド

リアを単離し、ミトコンドリアの酸素消費に変化がみられるか評価したところ、Meclizineの前投与はミトコンドリアの酸素消費を抑える効果があることが明らかとなった(図4D)。

MeclizineはこれまでIRIに対する臓器障害に保護作用が認められた多くの化合物と異なりHIFシグナリング経路への影響は認められず、新規の機序によりIRIに対して保護作用をもたらしている可能性が示唆された。作用機序不明の薬剤の作用機序解明にはメタボローム解析⁹⁾が有効であることが以前から報告されている。われわれのグループもメタボローム解析を施行し、Meclizine投与により細胞質内でリン脂質合成経路であるケネディ経路の中間代謝物であるフォスフォエタノールアミン(PEtn)が増加していることを突き止め、このPEtnがOXPHOSを抑制することが腎保護作用につながることを最終的にvivoとvitroの実験にて明らかにした(図

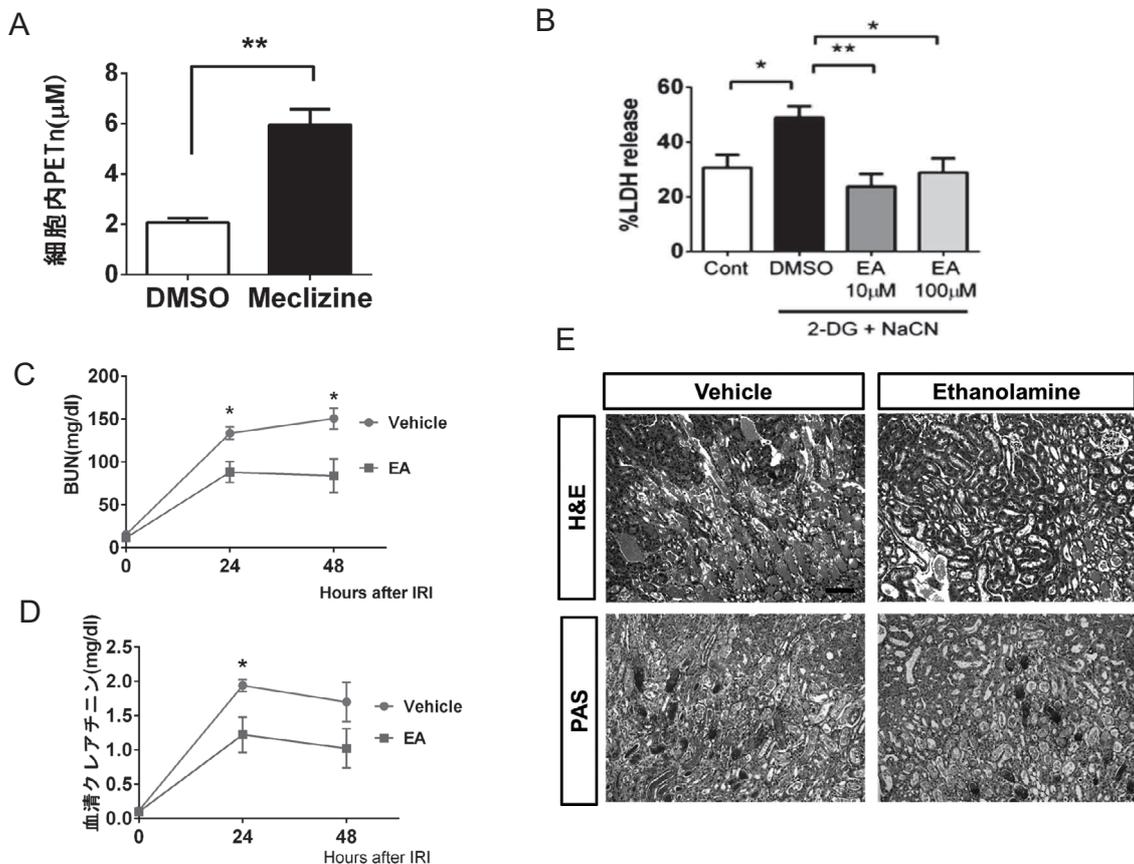


図5. Meclizine投与によって増加するフォスフォエタノールアミンが腎保護効果を示す文献4. より引用、一部改変

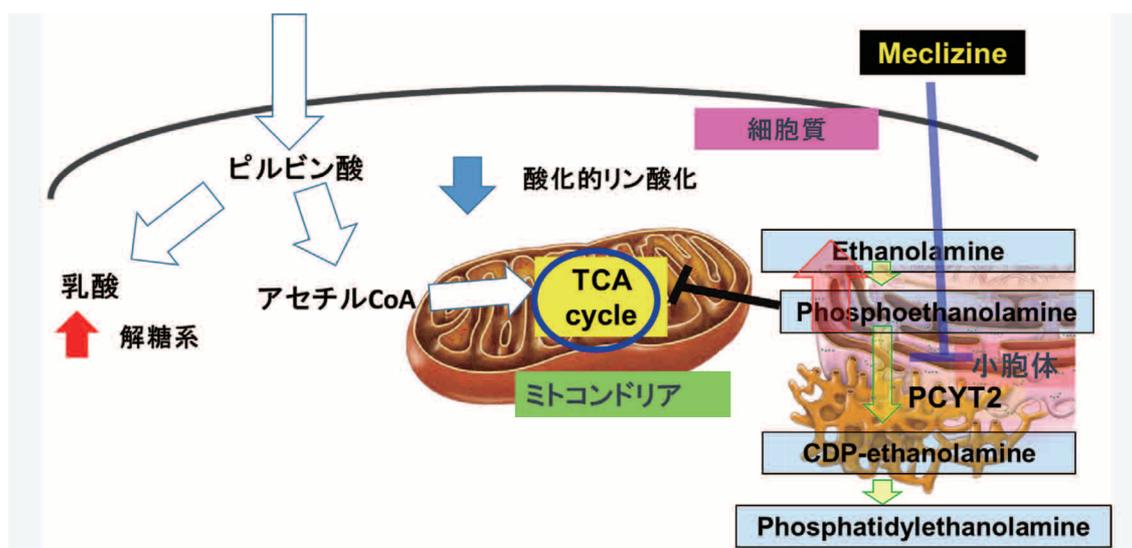


図6. Meclizine の腎保護効果のメカニズム

5)。このメカニズムは既存の薬物とは全く異なる新規のものである (図6)。

まとめ

われわれの結果は、すでに欧米やアジア等で幅広く安全に使用されている Meclizine の AKI 治療薬としての新たな可能性だけでなく、Meclizine の誘導体の開発を含めてケネディ経路が AKI 治療薬の新たな治療標的となりうることを示している。

文献

- 1) Bellomo, R., Ronco, C., Kellum, J. A., Mehta, R. L., *et al.*: Acute renal failure-definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Critical care*, (London, England), 8(4) : R204-12, 2004
- 2) Hsu, R. K., McCulloch, C. E., Dudley, R. A., Lo, L. J., *et al.*: Temporal changes in incidence of dialysis-requiring AKI. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 24(1) : 37-42, 2013
- 3) Chawla, L. S., Amdur, R.L., Shaw, A. D., Faselis, C., *et al.*: Association between AKI and long-term renal and cardiovascular outcomes in United States veterans. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 9(3) : 448-56, 2014
- 4) Ishani, A., Xue, J. L., Himmelfarb, J., Eggers, P. W., *et al.*: Acute kidney injury increases risk of ESRD among elderly. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 20(1) : 223-8, 2009
- 5) Kishi, S., Campanholle, G., Gohil, V. M., Perocchi, F., *et al.*: Meclizine Preconditioning Protects the Kidney Against Ischemia-Reperfusion Injury. *EBioMedicine*, 2(9) : 1090-101, 2015
- 6) McCord, J. M.: Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *The New England journal of medicine*, 312(3) : 159-63, 1985
- 7) Gohil, V. M., Sheth, S. A., Nilsson, R., Wojtovich, A. P., *et al.*: Nutrient-sensitized screening for drugs that shift energy metabolism from mitochondrial respiration to glycolysis. *Nature biotechnology*, 28(3) : 249-55, 2010
- 8) Brooks, C., Wei, Q., Cho, S. G., Dong, Z.: Regulation of mitochondrial dynamics in acute kidney injury in

cell culture and rodent models. *The Journal of clinical investigation*, 119(5) : 1275-85, 2009

- 9) Gohil, V. M., Zhu, L., Baker, C.D., Cracan, V., *et al.* :
Meclizine inhibits mitochondrial respiration thro-

ugh direct targeting of cytosolic phosphoethanolamine metabolism. *The Journal of biological chemistry*, 288(49) : 35387-95, 2013

Nutrient-sensitized screening for new drug development against Ischemic Kidney Injury

Seiji Kishi and Toshio Doi

Department of Nephrology, Tokushima University Hospital, Tokushima, Japan

SUMMARY

Acute kidney injury (AKI) is a big clinical problem. In addition to high mortality rate, AKI is a potent risk factor of end-stage kidney disease. Ischemia reperfusion injury (IRI) is the leading cause of AKI and we have no specific treatment options to treat AKI. Shifting energy metabolism from mitochondrial respiration to glycolysis may offer a novel therapy against ischemic organ injury. Based on this theory, Meclizine, first-generation antihistamine used for motion sickness and vertigo, was identified in a novel chemical screen. Kidney tubular injury after ischemia reperfusion was significantly decreased in meclizine treated mice compared with the vehicle treated mice (100mg/kg of meclizine, 17hours prior to ischemia). Meclizine treated kidney showed reduced inflammation, oxidative stress and mitochondrial fragmentation after IRI. Meclizine pretreatment reduced mitochondrial oxygen consumption. Reduced cell death and cytochrome c release was found in kidney tubular epithelial cells. Metabolic profiling revealed that Meclizine caused rapid accumulation of cellular phosphoethanolamine (PEtn). PEtn inhibits mitochondrial respiration and is an intermediate in phosphatidylethanolamine biosynthesis pathway (Kennedy pathway). In conclusion, Meclizine, or a derivative, is a candidate drug to minimize AKI risk and Kennedy pathway can be a novel therapeutic target for ischemic kidney injury.

Key words : AKI (Acute Kidney Injury), Meclizine, Kennedy Pathway