3 メガリンを標的とした腎臓病の新しい診断・治療法の開発

斎藤 亮彦

新潟大学大学院医歯学総合研究科・腎研究センター (トランスレーショナルリサーチ部門)機能分子医学講座

Development of Megalin - targeted Novel Strategies for Diagnosis and Treatment of Kidney Diseases

Akihiko Saito

Department of Applied Molecular Medicine, Kidney Research Center, Niigata University

Graduate School of Medical and Dental Sciences

要 旨

メガリンは主に腎近位尿細管に発現するエンドサイトーシス受容体であり、糸球体を濾過す るタンパク質などの様々なリガンドの取り込み・代謝に関わっている. 私たちは、メガリンが、 細胞外領域の切断により、あるいは全長型として、近位尿細管細胞から尿中に排出されること を明らかにした. それらの尿中メガリンは, 糖尿病性腎症, IgA 腎症, 小児の腎瘢痕, あるいは シスプラチン腎症などの新たなバイオマーカーになる可能性がある. メガリンはまた, アミノ 配糖体、バンコマイシン、コリスチン、シスプラチンなどの腎毒性薬剤を近位尿細管細胞に取り 込むことによって急性腎障害(AKI)を引き起こすことがわかってきた. 私たちは、ドラッグリ ポジショニングとして, シラスタチンがそれらの腎毒性薬剤とメガリンの結合に拮抗すること により腎毒性を軽減するという機序を明らかにした(「メガリン拮抗剤」). さらに私たちは、メ タボリックシンドローム型糖尿病モデルである高脂肪食負荷マウスにおいて、メガリンを介し て脂肪酸高含有タンパク質などが近位尿細管細胞に取り込まれることが、腎障害機序の引き金 になることを明らかにした、したがって糖尿病性腎症のような慢性腎臓病(CKD)の病態にお いては、メガリン機能を適切に抑制する薬物が有効である可能性がある. 経口抗酸化性炎症調 節薬であるバルドキソロンメチルはそのような「メガリン抑制薬」の候補の一つである. 今後, AKI においても CKD においても、メガリンが腎毒性物質を取り込む「入り口」分子であると いう観点から、尿中メガリンの動態をコンパニオン診断薬に応用しながら、メガリン拮抗(阻 害)薬あるいはメガリン抑制薬を予防・治療に活かすという道を開拓したい(メガリン創薬).

キーワード:メガリン、慢性腎臓病、急性腎障害、創薬、コンパニオン診断薬

メガリンとは

メガリンは膜性腎症(ネフローゼ症候群のひと つの原因疾患)のラットモデルである Heymann 腎炎の糸球体上皮細胞(ポドサイト)上の責任抗原 gp330 として同定され、1994 年に私たちにより cDNA の全構造がクローニングされた ¹⁾. 糖鎖修飾も加えると実際の分子量は約 600kDa に及ぶ

Reprint requests to: Akihiko SAITO
Department of Applied Molecular Medicine,
Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Sciences,
1 - 757 Asahimachi - dori, Chuo - ku,
Niigata 951 - 8510, Japan.

別刷請求先:〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757 新潟大学大学院医歯学総合研究科 機能分子医学講座 斎藤 亮 彦 巨大タンパク質である. LDL 受容体ファミリーに 所属する1回膜貫通型タンパク質であり, 巨大な 細胞外領域に特徴的なリピート配列から成るリガンド結合領域を持つ. メガリンはラット以外の種ではポドサイトには存在せず(あるいは発現量が 極めて少なく), 腎臓では近位尿細管の管腔側膜に高発現し, 糸球体を濾過したタンパク質を主とする様々なリガンドの細胞内取り込み・代謝(エンドサイトーシス)を担っている(図)²⁾³⁾. また近位尿細管細胞に発現する他のトランスポーターなどと共役し, 様々な機能に関与する. その他,メガリンは,内耳,眼,脳,肺胞,性腺,胎盤などにも発現している. その遺伝子異常によって, Donnai-Barrow/facio-oculo-acoustico-renal 症候群が発症することが知られている⁴⁾.

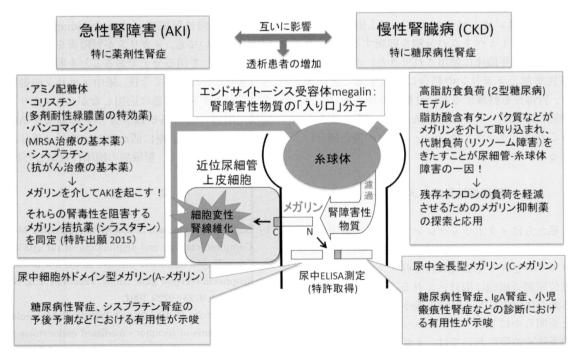
尿中メガリン測定

現在臨床では、アルブミンの他、様々な低分子量タンパク質 (α_1 -ミクログロブリン、 β_2 -ミク

ログロブリン, LFABP など) の尿中排泄量が近位尿細管細胞の障害マーカーとして使用されている. しかしそれらのタンパク質はすべてメガリンのリガンドであり, 近位尿細管におけるメガリンの再吸収能の低下を反映して尿中の排泄が増加する 2⁽³⁾

一方私たちは、メガリン自体が、細胞外領域の切断により、あるいは全長型として、近位尿細管細胞から逸脱・分泌され、尿中に排出されることを明らかにした(量的には前者が約 100 倍)(図)5)。 前者をアミノ末端側の、後者をカルボキシル末端側のサンドイッチ ELISA を用いて測定することから、それぞれを A-メガリン、C-メガリンと命名した.

細胞外領域型 (A-メガリン) は残存機能ネフロンにおけるメガリンのリサイクリングの促進と細胞膜における切断酵素反応よって尿中排泄が増加することが示唆され、全長型 (C-メガリン)はリソソーム障害 (タンパク質代謝負荷) に伴うエクソサイトーシスの亢進によってエクソソーム



と呼ばれる細胞外小胞に搭載されて排出が増加することが示された ⁶⁾.

2型糖尿病患者における横断的解析において、尿中 C-メガリンは正常アルブミン尿期から病期の進行に応じて増加する 5) が、縦断的解析においても、正常アルブミン尿が微量アルブミン尿に進展するリスクの予測能があることなどが示唆されている。さらに尿中 A-メガリンには、微量アルブミン尿期から顕性アルブミン尿期への進展予測能が示唆されている。また尿中 C-メガリンは、IgA 腎症の重症度 7) や小児の尿路感染症に伴う腎瘢痕の診断にも有用であるとともに、尿中 A-メガリンにはシスプラチン腎症の発症予測能も示唆されている。

薬剤性腎障害とメガリン

メガリンはアミノ配糖体、バンコマイシン、コリスチン、シスプラチンなどの腎毒性薬剤と結合し、それらを近位尿細管細胞に取り込むことによって急性腎障害(acute kidney injury、AKI)の発症に関わることがわかった⁸⁾. 私たちは、シラスタチン(腎ジヒドロペプチダーゼ I 阻害薬として、抗菌薬イミペネムの分解を抑制するため、合剤として長年臨床に使用されてきた)が上記の腎毒性薬剤とメガリンの結合に拮抗することにより、腎毒性を軽減するという機序を明らかにした(特許出願済、「メガリン拮抗剤」)⁸⁾(図). すなわちこれはドラッグリポジショニングの適応例といえる.

糖尿病性腎症とメガリン

私たちはメタボリックシンドローム型糖尿病モデルであるマウス高脂肪食負荷モデルにおいて、メガリンを介して脂肪酸高含有タンパク質などが近位尿細管細胞に取り込まれることが、尿細管から糸球体障害に至る腎障害機序の引き金になることを明らかにした⁹⁾. したがってそのような病態の予防や治療においては、メガリン機能を適切に抑制する手段が有効であることが示唆される(図).

経口抗酸化性炎症調節薬であるバルドキソロン メチルは Nrf2 活性化を介した細胞保護効果が期 待されている. 本剤は2型糖尿病患者を対象とし た臨床試験で eGFR 改善と同時に尿中アルブミン 排泄の増加が報告された 10)11). またカニクイザ ルを用いた実験で、腎臓のメガリン発現低下が認 められることから、メガリン発現低下に伴う近位 尿細管のアルブミン再吸収低下がアルブミン尿の 原因と推察されている 12). 前述の私たちの報告 から、本剤による eGFR 改善効果は、メガリン機 能抑制により近位尿細管細胞のタンパク質代謝負 荷が軽減したことも一因と考えられる. そしても しその推測が正しければ、本剤によってアルブミ ン尿が認められることは、必ずしも腎障害を意味 するのではなく、むしろ近位尿細管細胞を傷害か ら守る保護的な意義を示すことになり、 尿中バイ オマーカーの解釈にパラダイムシフトが起こる可 能性がある.

まとめと今後の展望

薬剤性腎障害などの AKI においても糖尿病性腎症などの慢性腎臓病(chronic kidney disease, CKD)においても、メガリンが腎障害を引き起こす「入り口」を司る分子であることを明らかになってきた. したがって今後、尿中メガリンの動態をコンパニオン診断薬に応用しながら、メガリン拮抗(阻害)薬あるいはメガリン抑制薬を AKIや CKD の予防・治療に活かすという「メガリン創薬」の道を開拓し、腎臓病の臨床に貢献したい.

文 献

- Saito A, Pietromonaco S, Loo AK and Farquhar MG: Complete cloning and sequencing of rat gp330/ "megalin," a distinctive member of the low density lipoprotein receptor gene family. *Proc Natl Acad Sci* USA, 91: 9725 - 9729, 1994.
- 2) Saito A, Sato H, Iino N and Takeda T: Molecular mechanisms of receptor - mediated endocytosis in the renal proximal tubular epithelium. *J Biomed Biotechnol*, 2010: 403272, 2010.

- 3) De S, Kuwahara S and Saito A: The endocytic receptor megalin and its associated proteins in proximal tubule epithelial cells. *Membranes* (*Basel*), 4: 333 355, 2014.
- 4) Kantarci S, Al Gazali L, Hill RS, Donnai D, Black GC, Bieth E, Chassaing N, Lacombe D, Devriendt K, Teebi A, Loscertales M, Robson C, Liu T, Maclaughlin DT, Noonan KM, Russell MK, Walsh CA, Donahoe PK and Pober BR: Mutations in LRP2, which encodes the multiligand receptor megalin, cause Donnai Barrow and facio oculo acousti co renal syndromes. Nat Genet, 39: 957 959, 2007.
- 5) Ogasawara S, Hosojima M, Kaseda R, Kabasawa H, Yamamoto Kabasawa K, Kurosawa H, Sato H, Iino N, Takeda T, Suzuki Y, Narita I, Yamagata K, Tomino Y, Gejyo F, Hirayama Y, Sekine S and Saito A: Significance of urinary full length and ecto domain forms of megalin in patients with type 2 dia betes. *Diabetes Care*, 35: 1112 1118, 2012.
- 6) De S, Kuwahara S, Hosojima M, Ishikawa T, Kaseda R, Sarkar P, Yoshioka Y, Kabasawa H, Iida T, Goto S, Toba K, Higuchi Y, Suzuki Y, Hara M, Kurosawa H, Narita I, Hirayama Y, Ochiya T and Saito A: Exocytosis Mediated Urinary Full Length Megalin Excretion Is Linked With the Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. *Diabetes*. May; 66: 1391 1404, 2017.
- 7) Seki T, Asanuma K, Asao R, Nonaka K, Sasaki Y, Oliva Trejo JA, Kurosawa H, Hirayama Y, Horikoshi S, Tomino Y and Saito A: Significance of urinary full length megalin in patients with IgA nephropathy. *PLoS One*, 9: e114400, 2014.

- 8) Hori Y, Aoki N, Kuwahara S, Hosojima M, Kaseda R, Goto S, Iida T, De S, Kabasawa H, Kaneko R, Aoki H, Tanabe Y, Kagamu H, Narita I, Kikuchi T and Saito A: Megalin Blockade with Cilastatin Suppresses Drug Induced Nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol.* Jun; 28: 1783 1791, 2017.
- 9) Kuwahara S, Hosojima M, Kaneko R, Aoki H, Nakano D, Sasagawa T, Kabasawa H, Kaseda R, Yasukawa R, Ishikawa T, Suzuki A, Sato H, Kageyama S, Tanaka T, Kitamura N, Narita I, Komatsu M, Nishiyama A and Saito A: Megalin Mediated Tubuloglomerular Alterations in High Fat Diet Induced Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol*, 27: 1996 2008, 2016.
- 10) Pergola PE, Raskin P, Toto RD, Meyer CJ, Huff JW, Grossman EB, Krauth M, Ruiz S, Audhya P, Christ - Schmidt H, Wittes J and Warnock DG: Bardoxolone methyl and kidney function in CKD with type 2 diabetes. N Engl J Med, 365: 327 - 336, 2011.
- 11) de Zeeuw D, Akizawa T, Audhya P, Bakris GL, Chin M, Christ Schmidt H, Goldsberry A, Houser M, Krauth M, Lambers Heerspink HJ, McMurray JJ, Meyer CJ, Parving HH, Remuzzi G, Toto RD, Vaziri ND, Wanner C, Wittes J, Wrolstad D and Chertow GM: Bardoxolone methyl in type 2 diabetes and stage 4 chronic kidney disease. N Engl J Med, 369: 2492 2503, 2013.
- 12) Reisman SA, Chertow GM, Hebbar S, Vaziri ND, Ward KW and Meyer CJ: Bardoxolone methyl decreases megalin and activates nrf2 in the kidney. J Am Soc Nephrol, 23: 1663 - 1673, 2012.