

別紙 1

博士論文要旨

論文題目 : レニンアンジオテンシン系阻害薬がシスプラチン誘発性腎障害に与える影響

申請者 細田 敦規

専攻分野 医療薬学専攻

研究指導分野 臨床薬学分野

指導教員 河野 武幸

シスプラチン (CDDP, cis-diamine dichloroplatinum) は、多くのがん種に対する化学療法に広く用いられているが、投与時に生じる腎障害が用量規定因子となることがある。CDDP による腎障害の一般的な予防方法として、補液や利尿薬の投与が行われているが、効果は不十分である。また、CDDP 誘発性の急性腎障害 (AKI, acute kidney injury) から不可逆的な慢性尿細管症や腎線維化が起き、慢性腎障害 (CKD, chronic kidney disease) に進展することも報告されている。

一方、降圧薬の服用や血圧の低下が AKI の発症リスクを増大させるという報告がある。本邦の高血圧症の患者数は 994 万人と推定されており、降圧薬が CDDP と併用されることは多い。その場合、CDDP 誘発性の腎障害がさらに増悪することが予想される。CDDP の効果は濃度依存的であり、腎障害のために用量を下げることで余儀なくされると、必然的に治療強度が低下する。従って、腎障害の発症機序の解明や発症予防を目的とした投与レジメンの開発には、強い臨床的要請がある。

本研究では、CDDP 誘発性の腎障害によって CDDP の治療強度を低下させることのない最適な化学療法を提案することを目的として、1) 降圧薬と CDDP 併用患者の腎機能障害の実態を調査し、その結果に基づき、リバーストランスレーショナルに、2) 降圧薬と CDDP との併用が CDDP 誘発性の AKI に与える影響、3) 降圧薬と CDDP との併用が CDDP 誘発性

の CKD に与える影響を調べた。

第 1 章 降圧薬と CDDP 併用患者の腎機能障害の実態

CDDP による化学療法レジメンで治療を受けた患者の診療情報を用いた後ろ向き観察研究により、1) CDDP と降圧薬の併用で CDDP による腎機能障害が増悪するか否か、2) 増悪するとすれば、腎障害を生じさせやすい降圧薬を特定できるか否かについて調べた。対象患者を CDDP に降圧薬を併用していた群（降圧薬併用群）と併用していなかった群に分けて腎機能マーカー（血清クレアチニン値（CRE, creatinine）、血液尿素窒素（BUN, blood urea nitrogen）、推定糸球体濾過量（eGFR, estimated glomerular filtration rate））と腎機能障害の発生率を比較した。その結果、CDDP に降圧薬を併用しても、腎機能マーカーの変動や腎機能障害の発生率に差は認められなかった。降圧薬併用群には異なる作用機序の降圧薬が混在しており、その中には、腎障害に対する保護効果が報告されているものがある。そのため、降圧薬併用の有無ではなく、作用機序毎に CDDP による腎障害への影響を検討する必要があると考えられた。そこで、降圧薬併用群を RAS（RAS, renin angiotensin system）阻害薬併用群とそれ以外の降圧薬併用群（RAS 阻害薬非併用群）に分けて比較した。その結果、RAS 阻害薬併用群では CDDP 投与前と比較して、CRE と BUN の上昇および eGFR の低下が認められた。一方、RAS 阻害薬非併用群では、腎機能マーカーの変動はみられなかった。なお、腎機能障害の発生率は RAS 阻害薬併用群で 25.0%、RAS 阻害薬非併用群で 4.8%であった。これらの結果から、CDDP による腎障害は、RAS 阻害薬によって増悪すると考えられた。しかし、臨床研究で 1) 降圧薬のうち RAS 阻害薬のみの併用が CDDP による腎障害を増悪すること、2) 増悪するとしてそのメカニズムを解明することは困難である。このクリニカルクエスチョンを解決するためには、リバーストランスレーショナルリサーチによる基礎データの集積が必要と考えられた。

第 2 章 降圧薬が CDDP 誘発性の AKI に与える影響:マウスを用いた検討

第 1 章の結果を動物実験によって検証することを目的に、BALB/c マウス（6 週齢, 雄性）を、1) Control 群、2) CDDP 単独群、3) CDDP+AML（AML, amlodipine）併用群、4) CDDP+ENA（ENA, enalapril）併用群、5) CDDP+TEL（TEL, telmisartan）併用群、6) CDDP+LOS（LOS, losartan）併用群、7) AML 単独群、8) ENA 単独群、9) TEL 単独群および 10) LOS 単独群に分け、CDDP による AKI に対する降圧薬併用の影響および腎機能障害の発症機序の解明を試みた。その結果、特に RAS 阻害薬の併用、即ち、ENA, LOS, TEL を併用すると、併用しない場合と比較して CRE

および BUN に上昇がみられた。特に，CDDP+TEL 併用群では強い上昇がみられた。一方，腎障害マーカーの変動と血圧低下との間には，相関関係は認められなかった。

次に，腎障害の程度を組織学的に確認するために，Masson Trichrome 染色によって腎間質面積に対する腎線維化面積比を算出し，比較した。その結果，TEL を併用した場合は，併用しない場合と比較して腎線維化面積比が有意に増加した。次に，腎細胞死への影響を評価するため，TUNEL (TUNEL, terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick-end labeling) 染色を行い，TUNEL 陽性細胞領域を抽出し腎間質面積に対する割合を算出し，比較した。その結果，全ての降圧薬併用群で CDDP 単独群と比較してアポトーシス領域は増加していた。

以上の結果から，マウスを用いた検討でも，第 1 章（ヒトでの知見）と同様に RAS 阻害薬を CDDP と併用すると，CDDP 誘発性の AKI が増悪することが示された。また，腎障害の増悪機序には血圧以外の要因が存在する可能性が示された。さらに，TEL の併用が他の降圧薬の併用と比較して CDDP 誘発性の腎障害を強く増悪させることが明らかとなった。

第 3 章 降圧薬が CDDP 誘発性の CKD に与える影響

実臨床では化学療法レジメンに則り，抗がん剤を反復的に投与する。そのため，実臨床と同様にマウスに CDDP を反復投与して降圧薬が CDDP 誘発性の CKD に与える影響を検討する必要がある。また，第 2 章で CDDP と降圧薬の併用により，腎線維化面積比の増加が示された。従って，降圧薬が腎線維化を増悪させる機序の解明も必要である。腎線維化に関わる細胞群の中で，上皮間葉転移 (EMT, epithelial-mesenchymal transition) 由来細胞は腎線維化への関与が大きいと考えられている。

本章では，マウスに CDDP を 7 日間ごとに計 4 回反復投与し第 2 章と同様に群分し，1) CDDP 誘発性の CKD に及ぼす影響および 2) 腎線維化に対する EMT の関与を検討した。その結果，全ての降圧薬併用群で BUN の上昇がみられた。TEL を併用した場合は，併用しない場合と比較して BUN が有意に上昇しており，第 2 章の結果と同様に，使用した降圧薬の中で，特に TEL の併用がより腎障害を増悪させることが示された。以上の結果から，TEL の併用は CDDP 誘発性の AKI だけでなく，CKD も増悪させることが明らかになった。

ENA および TEL の併用により死亡個体がみられたため，死因に降圧薬の用量が関連しているか否かを確認した。即ち，併用する降圧薬を半量に減薬し，生存率を比較した。その結果，ENA では低用量と高用量

で生存率に有意な用量依存性がみられた。また、TEL では生存率に差はなく、用量依存性も認められなかった。死亡個体のうち約半数(47%)は死亡直前のBUNが高く、腎障害が原因で死亡したと考えられた。

次に、第2章と同様に腎線維化面積比を算出し、比較した。その結果、ENA または TEL の併用は併用しない場合と比較して腎線維化面積比が増加する傾向がみられた。以上のような腎線維化に対する EMT の関与を検討するため、 α -smooth muscle actin (α -SMA) の免疫染色によって α -SMA 染色領域を算出し、比較した。その結果、ENA 併用群および TEL 併用群は、CDDP 単独群と比較して α -SMA 染色領域の増加傾向がみられた。このことから、ENA または TEL の併用により EMT が誘導され、CDDP による腎線維化がさらに増悪した可能性が示された。

以上の結果から、CDDP 誘発性の CKD においても、第2章と同様に RAS 阻害薬と CDDP との併用で腎障害を増悪させる可能性が示された。また、ENA と TEL が用量依存的に CDDP の毒性を増強させる可能性を見出した。腎障害を増悪させる原因として、EMT 誘導による CDDP の腎線維化の促進が関与している可能性が示された。

本研究の結果は、CDDP と RAS 阻害薬の併用により、CDDP 誘発性の AKI および CKD が増悪する可能性を示し、RAS 阻害薬の中でも、TEL は特に腎障害を増悪させることを示した。さらに、CDDP による腎障害と血圧低下に相関がないことを示し、腎障害を増悪させる要因として、降圧薬が EMT を誘導し腎線維化を促進する可能性を示した。以上の結果から、RAS 阻害薬が CDDP 誘発性の腎障害に与える影響について一定の方向性を示した。今後、薬物の血中濃度や代謝経路、トランスポーターの関与などの薬物動態の知見の集積が必要と思われる。