平成 29 年度　実用化研究報告

慢性炎症性疾患におけるリンパ球 K^+チャネル（Kv1.3）の病的・治療的意義についての研究

宮城大学　看護学群　　教授　風間逸郎

１．　研究の概要

電位依存性遅延整流型 K^+チャネル、Kv1.3 は、胸腺リンパ球の細胞膜上に多く存在し、その活性がリンパ球の増殖や活性化を促す。近年の報告によると、悪性腫瘍や自己免疫疾患では、癌細胞やリンパ球における Kv1.3 の過剰発現が、病気の発症や進展に大きく関与する。最近、医学研究の関心は、“上皮”から“間質”に移りつつあり、炎症や線維化、がん浸潤、組織再生の“場”としての“間質研究”が脚光を浴びている。そして、悪性腫瘍や自己免疫疾患だけでなく、内科領域では“慢性閉塞性肺疾患”、“炎症性腸疾患”、“慢性間質性腎炎”などの慢性疾患で、外科領域では、手術・外傷後の“肥厚性瘢痕（ケロイド）”の形成や“全身性炎症反応症候群（Systemic Inflammatory Response Syndrome; SIRS）からの多臓器不全”への進行過程にも、傷害臓器の“間質”領域における慢性炎症や、免疫反応の過剰な賦活化が関与することが明らかになってきた。従って、これらの疾患でも、リンパ球 Kv1.3 を介した炎症性細胞の増殖や活性化が、病態の進行過程に関与している可能性が高い。わが国では人口の高齢化に伴い、上記の疾患に加え、認知症や生活習慣病（高血圧、糖尿病）、動脈硬化性疾患（脳卒中、心筋梗塞）の患者数が増加している。最近では、これらの疾患の病態形成過程においても、臓器の“間質”における慢性炎症が関わることが明らかになってきた。本研究により、リンパ球 Kv1.3 を阻害することで、慢性炎症性疾患の進行が抑えられることが明らかになれば、これらの慢性疾患に対する新規予防法の開発、または、安全性が確立されている既存の頻用薬による新規予防法の発見、につながる。

２．慢性間質性腎炎の進行とリンパ球 Kv1.3 チャネル活性

T リンパ球においては、Kv1.3 チャネルを介した外向きのカリウムイオンの移動が細胞内へのカルシウムの流入を引き起こし、Calcineurin pathway が活性化される。その結果、サイトカインの産生や、リンパ球の増殖が促され、細胞性免疫が賦活化される（図１）。

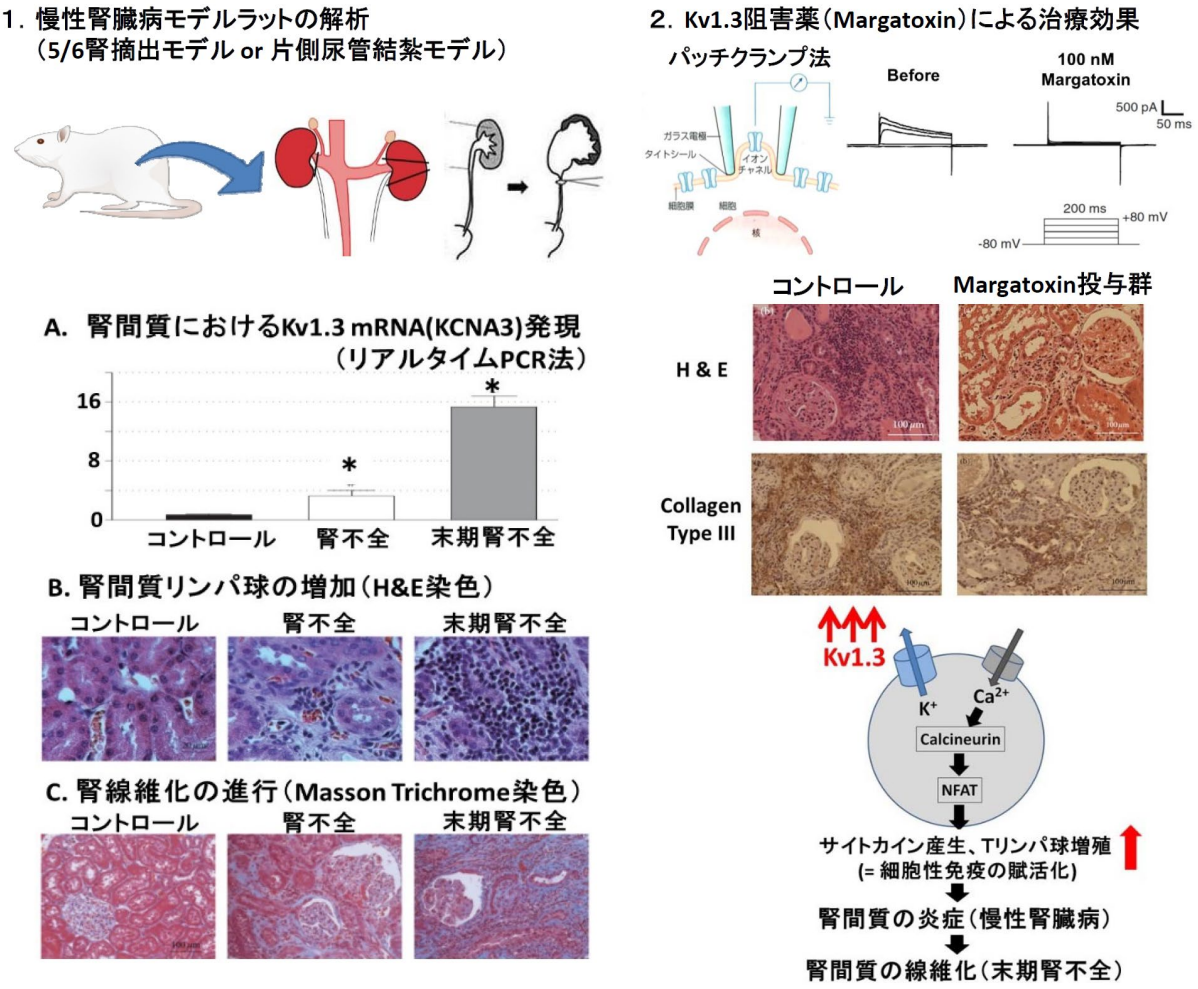

図１．慢性間質性腎炎におけるリンパ球 Kv1.3 の病的意義

慢性腎不全では一般に、病期の進行とともに血液中のサイトカイン濃度が上昇することが知られているが、われわれの研究結果からも、5/6 腎摘術後の末期腎不全ラットの腎臓では病態の進行とともに、腎皮質領域における炎症性細胞の浸潤が著しくなり、腎間質領域の拡大と著しい線維化の進行が認められた（図１）。また、細胞増殖マーカーである Ki-67 による抗体染色の結果、末期腎不全ラットの腎間質では、著しい細胞増殖が認められたが、これらの細胞のほとんどが、CD3 または ED-1 陽性の T リンパ球やマクロファージなどの炎症性細胞であった。

正常ラットの腎臓や腎不全の初期において Kv1.3 チャネルは、主に近位尿細管や集合管に発現することが知られているが、われわれが行った研究の結果、腎不全の進行に従い、増殖の著しいリンパ球やマクロファージにおいて過剰発現が認められた（図１）。そこで、慢性腎不全の病態における本 K^+チャネルの関与を明らかにするために、

間質性腎炎の像を示す末期腎不全ラットに対して選択的 Kv1.3 チャネル阻害薬である Margatoxin の治療的投与を試みた。その結果、Margatoxin 投与群では非投与群に比べ、腎間質領域における炎症性細胞の浸潤が抑えられ、腎線維化の進行も有意に抑制された（図１）。従って慢性腎不全に伴う間質性腎炎では、腎臓リンパ球における Kv1.3 チャネルの過剰発現がリンパ球自身の増殖を促し、サイトカインの産生や線維芽細胞の活性化を介して、腎臓の線維化を進行させると考えられた。

３．　降圧薬 Benidipine が有する“Kv1.3 阻害作用”と腎線維化の抑制

Margatoxin はリンパ球において、Kv1.3 チャネルを阻害することにより炎症性サイトカインの産生を抑え、免疫抑制作用を発揮することが分かっている。しかし、Maragatoxin をはじめとする数多くの選択的 Kv1.3 チャネル阻害薬は、神経や筋肉に対する副作用が強いため、未だ治療薬としての実用化には至っていない。一般診療の中で頻用されている非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）、抗生物質、降圧薬の中にも、本来の薬理作用に加え、免疫抑制作用を併せ持つものがあるが、それらの作用機序についてはよく分かっていない。われわれがマウス胸腺由来リンパ球を用いて行った電気生理学的実験（パッチクランプ法）の結果、NSAIDs（Diclofenac, Salicylate, Indomethacin）、マクロライド系抗生物質（Clarithromycin）、ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬（Nifedipine, Benidipine）は、いずれも Kv1.3 チャネル電流を有意に抑制致したことから、これらの薬剤は Margatoxin と同様、リンパ球 Kv1.3 チャネルを阻害することによって炎症性サイトカインの産生を抑え、免疫抑制作用を発揮すると考えられた（図２）。

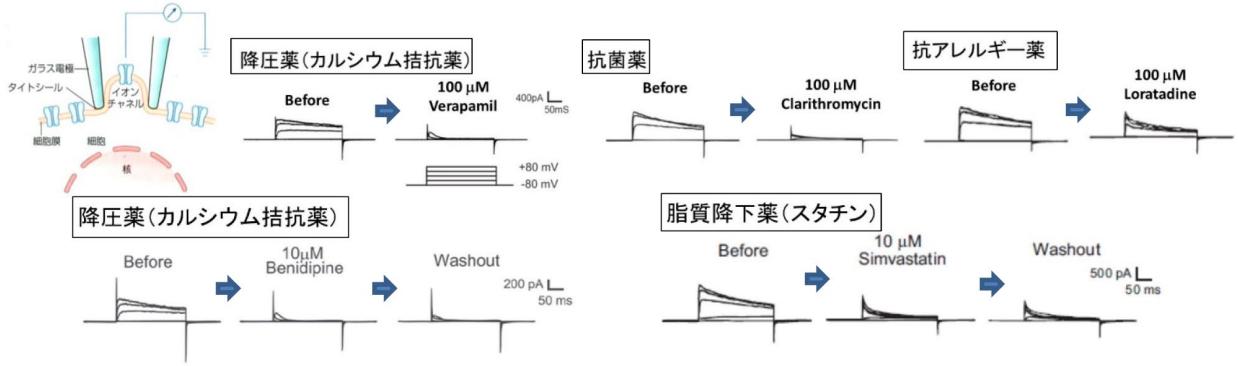

図２．日常診療頻用薬による“Kv1.3 阻害作用”（パッチクランプ法）

中でも Benidipine は、少ない用量でも本チャネル電流を強力、かつ持続的阻害したため（図２）、われわれは末期腎不全モデルラットに対して、本薬剤の治療的投与を試みた。その結果、Benidipine 投与群では非投与群に比べ、腎間質領域における炎症性

細胞の浸潤・増殖や、IL-2 や IFN-γ などの炎症性サイトカインの産生が抑えられ、腎線維化の進行も有意に抑制されていた（図３）。Benidipine はカルシウム拮抗薬として、L および T タイプの Ca^{2+}チャネルに拮抗するため、腎臓糸球体の輸入・輸出細動脈ともに拡張することが分かっている[1)]。これにより糸球体内圧を低下させ、とくに保存期腎不全においては、腎臓への蛋白負荷を減らすとされている。しかし、われわれの研究結果から、末期腎不全モデルラットでは、Benidipine 投与によっても全身血圧・尿蛋白量ともに高値が維持されたことから、末期腎不全の状態では、本薬剤は腎血行動態を変化させることなく、腎線維化の進行を抑制すると考えられた。従って、慢性腎不全に伴う間質性腎炎において Benidipine は、腎臓リンパ球で過剰発現した Kv1.3 チャネルを阻害することによって、リンパ球の増殖やサイトカインの産生を抑え、腎線維化の進行を抑制すると考えられた。

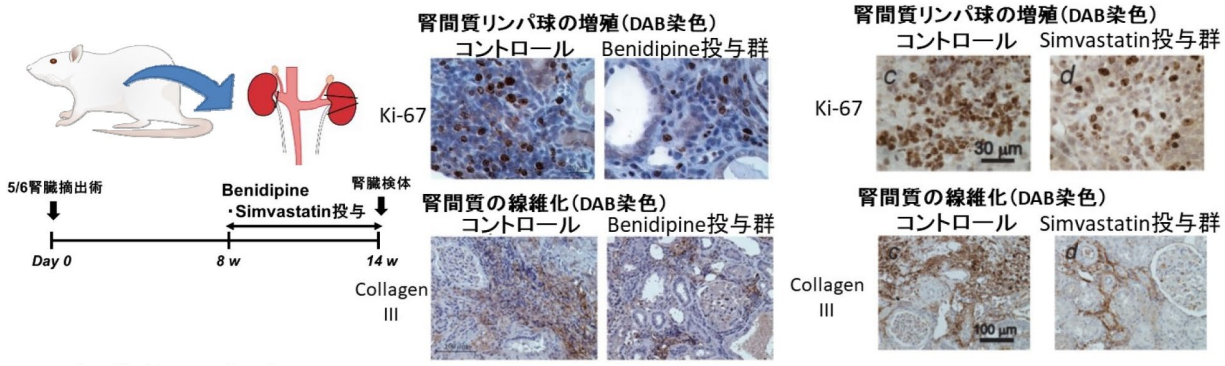

図３．慢性間質性腎炎に対する、Benidipine や Simvastatin による治療効果（5/6 腎臓摘出モデルラット）

４．　脂質降下薬 Simvastatin が有する“Kv1.3 阻害作用”と腎線維化の抑制

マウス胸腺由来リンパ球を用いて行った電気生理学的実験（パッチクランプ法）の結果、スタチン系抗コレステロール薬のひとつである Simvastatin も Benidipine と同様、少ない用量でリンパ球 Kv1.3 チャネル電流を強力、かつ持続的阻害した（図２）。そこでわれわれは、末期腎不全モデルラットに対し、本薬剤の治療的投与も試みた。その結果、Simvastatin 投与群では非投与群に比べ、腎間質領域における炎症性細胞の浸潤・増殖や腎線維化の進行が有意に抑制されていた（図３）。しかし、Benidipine の場合と異なり、Simvastatin は糸球体硬化病変の進行も抑制した。従って、Simvastatin が腎線維化を抑制するメカニズムについては、リンパ球 Kv1.3 阻害による抗炎症作用のほかにも、糸球体硬化の改善がもたらす二次的な効果も除外しきれないと考えられた。

５．　今後の展望

慢性間質性腎炎のモデルを用いた本研究により得られた知見については、他の動物モデル（慢性閉塞性肺疾患や炎症性腸疾患、外傷・手術後の瘢痕、全身性炎症反応症候群（SIRS）・敗血症など）でも検証中である。今後の研究成果については、これらの疾患に対する新規治療（予防）法の開発、または、安全性が確立されている既存の頻用薬による新規治療（予防）法の発見・実用化へとつなげていきたい。本研究により、慢性閉塞性肺疾患や炎症性腸疾患、外傷・手術後の瘢痕、全身性炎症反応症候群・敗血症などの疾患動物モデルに対する Kv1.3 阻害薬の効果が明らかになれば、ヒトに対する臨床試験など、治療の実用化に向けた共同研究へと駒を進めていく。Kv1.3 をターゲットとした創薬開発を行う場合には、東北地方を基盤とする製薬企業とも連携を図り、新規化合物の合成（食品成分や植物からの抽出も含む）については理・工・薬・農学部・食産業学群とも共同研究を行っていきたい。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご協力下さいました共同研究者の皆様、ならびに本研究助成を賜りました公益財団法人インテリジェント・コスモス学術振興財団の皆様に、この場をお借りして厚く御礼申し上げます。

出版論文（平成２９年～平成３０年）

1) Kazama I, Nakajima T. Acute enterocolitis causing an appendicitis like symptoms. *Infez Med* 26, pp176-177, 2018.
2) Hatano R, Takeda A, Abe Y, Kawaguchi K, Kazama I, Matsubara M, Asano S. Loss of ezrin expression reduced the susceptibility to the glomerular injury in mice. *Sci Rep* 8, pp4512-, 2018.
3) Kon N, Abe N, Miyazaki M, Mushiake H, Kazama I. Partial Exposure of Frog Heart to High-potassium Solution: An Easily Reproducible Model Mimicking ST Segment Changes. *J Vet Med Sci* 80, pp578-582, 2018.
4) Kazama I, Nakajima T. Postrenal Acute Kidney Injury in a Patient with Unilateral Ureteral Obstruction Caused by Urolithiasis: A Case Report. *Medicine*, Oct;96(43):e8381, 2017.
5) Kazama I. High-Calcium Exposure to Frog Heart: A Simple Model Representing Hypercalcemia-induced ECG Abnormalities. *J Vet Med Sci* 79, pp71-75, 2017.
6) Baba A, Tachi M, Ejima Y, Endo Y, Toyama H, Saito K, Yamauchi M, Miura C, Kazama I. Less Contribution of Mast Cells to the Progression of Renal Fibrosis

in Rat Kidneys with Chronic Renal Failure. *Nephrology (Carlton)* 22, pp159-167, 2017.