

## 2016年度日本臨床薬理学会海外研修員報告： 研修完了報告書

岩 倉 考 政

研 修 先：Ludwig-Maximilian University of Munich, Anders & Vielhauer Laboratory, Germany  
(指導者：Professor Hans-Joachim Anders)

研修内容：Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬による腎尿細管障害予防および障害後再生促進効果についての検討

研修期間：2016年10月～2019年3月

現 所 属：磐田市立総合病院 腎臓内科

### 1. はじめに

この度、ドイツ Ludwig-Maximilian University of Munich の Anders & Vielhauer Laboratory における海外研修を終え、無事帰国いたしました。当初、2年の研修予定でしたが、進行中のプロジェクトを完了させるために半年間延長し、計2年半の研究生活を送ることができました。留学中は臨床から離れ、朝から晩まで研究に集中することができ、とても充実した時間を過ごすことができました。今回の留学に際し日本臨床薬理学会の海外研修員にご選考いただき、貴重な機会を与えていただきましたこと、改めて心より感謝申し上げます。本稿では以前の報告（学会HPに掲載）と重複する部分がございますが、研修先の特徴、研究内容、得られた知見につきましてご報告させていただきます。

### 2. 研修先について

研究室のあるドイツ・バイエルン州ミュンヘンはドイツで3番目に大きな都市です。市中心部には歴史的建造物が並び、また数多くの広大な公園がある美しい街です。ミュンヘンは南ドイツに位置しますので、数時間の車・電車移動でオーストリア、チェコ、イタリアなどを訪れることができます。研究室はミュンヘン中央駅の近くにあります。私は研究室まで電車または自転車にて通勤し、自転車で通う際にはビールの祭典で有名なオクトーバーフェストの会場となる公園を通過していましたので、9月になると会場が出来上がる様子を楽しみに通勤していたのが思い出されます。

研究室では Professor Anders の指導の下、数多くのプロジェクトに参加する機会をいただき、主に3つのプロジェクトを任されました。研修先の研究室はこれまでに炎症性

サイトカインやケモカイン、細胞死シグナルの検討を腎障害モデルにおいて盛んに行い、腎障害を予防する薬剤の探索とその機序の解明を行ってきました。しかしながら、実臨床において我々腎臓内科医に紹介される患者は既に腎障害を発症しており、腎障害発症後の治療介入では多くの腎障害予防薬は効果が認められないことが動物実験にて明らかになっています。このような背景から、最近、研修先の研究室ではどのように腎障害を起こした後の腎臓を守るのかということにも焦点を当て、ドイツ国内やイタリアの研究室と多くの共同研究を行っております。複数の Principal investigator (PI) がそれぞれ異なる分野を研究し、腎臓内科に関連する研究だけでなく、消化管や癌の研究を行うグループもあります。研究室内の繋がりは強く、癌細胞や大腸上皮細胞などを譲渡してもらうことも気軽にできました。所属するグループは現在3名の PhD および10数名の PhD student, Medical student から成り、その出身地はドイツの他に、スペイン、フランス、チェコ、ポーランド、インド、イラク、ブラジル、エジプト、中国と多岐に渡ります。このように多国籍の研究室のため、言語は英語でコミュニケーションを取っていました。研究室内の雰囲気はよく、同僚たちと実験のトラブルシューティングや細かい実験プランについてランチタイムや毎週のミーティングなどで気軽に相談することができる環境でとてもありがたかったです。

### 3. 研究内容について

#### —DPP-4 阻害薬の多面的効果の検討—

私は浜松医科大学大学院にて薬剤性急性腎障害の機序についての研究を行い、卒後は薬剤介入による急性腎障害の

予防・治療法について検討を行っていました。しかしながら、基礎研究において有効性が認められた薬剤が、ヒトにおいても有効性が認められるとは限らず、仮に有効性が確認された場合においても実際に患者に使えるまでは長い年月がかかります。そこで、すでに医薬品として上市されている薬剤のうち腎臓病に治療可能性のある薬剤を探索し、dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬に注目しました。DPP-4 阻害薬は抗糖尿病薬として臨床では適応がありますが、作用機序から食後高血糖を抑える薬剤であり、単剤では低血糖を起こしにくい薬剤です。DPP-4 阻害薬はマウス腎障害モデル（虚血再灌流障害およびシスプラチン腎症）において腎障害軽減効果があることがすでに報告されました<sup>1,2)</sup>。私はラットにおけるシスプラチン腎症がDPP-4 阻害薬を投与することで軽減されることを明らかにしました。この結果はDPP-4 阻害薬が種を超えてシスプラチンによる腎障害を予防することを示し、ヒトにおいても同様の所見が得られる可能性が期待されます。ヒトにおける報告はまだありませんが、今後このような研究結果が報告されることを願っております。

次に、DPP-4 阻害薬の *in vivo* における腎障害保護効果の機序として、DPP-4 阻害薬または glucagon-like peptide-1 (GLP-1) による尿細管細胞死抑制効果の可能性をマウス単離尿細管初代培養細胞にて検討いたしました。既報告では *in vivo* における DPP-4 阻害薬の腎障害軽減効果は GLP-1 を介したものであると報告されています<sup>2)</sup>。しかしながら、両薬剤の fM から mM までの広域濃度の検討においては薬剤のシスプラチンによる尿細管細胞死を抑制する効果は認められませんでした（未発表データ）。

続いて、腎障害発症後の DPP-4 阻害薬投与がその後の腎保護効果を有するかについても *in vivo* にて検討を行いました。腎機能低下開始後の DPP-4 阻害薬投与は残念ながら腎障害ピークの腎機能および組織障害を軽減することができませんでした（未発表データ）。しかしながら、慢性期の観察にて DPP-4 阻害薬投与群はコントロール群に比し、腎機能、組織障害、炎症の改善を認めました。マクロファージの phenotype を確認したところ、抗炎症に働く M2 マクロファージの増加を DPP-4 阻害薬投与群で認めました。

さらに、DPP-4 阻害薬または GLP-1 による尿細管細胞の増殖促進効果を *in vitro* において検討しました。マウス単離尿細管初代培養細胞を用いた検討にて、DPP-4 阻害薬は濃度依存性に尿細管細胞の増殖を促進することが示されました。同様の効果が細胞株 (human kidney 2 細胞) およびマウス/ヒト尿細管前駆細胞においても認められました（未発表データ）。一方で、GLP-1 には尿細管細胞の増殖促進効果は認められませんでした（未発表データ）。

次に、DPP-4 阻害薬が尿細管細胞の増殖を促進する機序を明らかにするために、DPP-4 の基質となるケモカインを網羅的に検討しました。その結果、C-X-C Motif Chemokine

Ligand 12 (CXCL12; stromal cell-derived factor-1) のみが尿細管細胞の増殖を促進し、その効果は CXCL12 のレセプターである CXCR4 の antagonist にて打ち消されました。CXCL12 は内皮細胞の増殖を促すことが最近報告されています<sup>3)</sup>。DPP-4 阻害薬が抗細胞死に加えて、再生促進効果も得られるならば腎臓病の治療としては理想的ですが、一方で癌細胞の増殖にも関与した場合、シスプラチンで治療した患者の癌細胞の増殖を DPP-4 阻害薬が促してしまう可能性が危惧されます。そこで、腎細胞癌の細胞株を用いて DPP-4 阻害薬が癌細胞の増殖を促す可能性についても検討を行いました。結果、腎細胞癌では DPP-4 阻害薬の増殖促進効果は認めませんでした（未発表データ）。しかし、検討した細胞株における DPP-4 および CXCR4 の発現や CXCL12 への反応性の検討は行っていないため、DPP-4 阻害薬が癌患者におけるシスプラチン腎症の予防・治療薬として使用できるかについてはさらなる検討が必要と思われます。これらの得られた知見の一部をまとめた論文が昨年腎臓学分野の雑誌 (Nephrology Dialysis Transplantation) に無事受理され<sup>4)</sup>、先日 Editorial で紹介されました<sup>5)</sup>。

まとめますと、(1) DPP-4 阻害薬のシスプラチン腎症軽減効果は尿細管細胞への DPP-4 阻害薬または GLP-1 による直接作用ではなく、何らかの間接的な GLP-1 の増加を介したものであること、(2) DPP-4 阻害薬は GLP-1 とは独立して、直接的に尿細管細胞の増殖を促進すること、(3) その機序として、尿細管から自己分泌された CXCL12 の DPP-4 による分解を阻害することで、CXCL12 が CXCR4 に結合し、尿細管細胞の増殖を促進する可能性が示唆されること、(4) DPP-4 阻害薬は M2 マクロファージの増加を介した抗炎症作用により間接的に尿細管障害を軽減する可能性が示唆されること、(5) DPP-4 阻害薬による腎細胞癌の増殖促進効果は検討した範囲では認めないことが、今回の検討にて明らかとなりました。

#### 4. おわりに

この度は海外研修員という貴重な機会を与えていただいた日本臨床薬理学会の皆様へ改めて心より感謝申し上げます。また、研修を受け入れてくださった Professor Anders, カンファレンスなどで貴重な助言をいただいた研究所内の PI, PhD の皆様、共同研究させていただいたイタリア・University of Florence の Professor Romagnani に心から感謝申し上げます。さらに、留学中に多くの時間を研究所で共に過ごした同僚達、日本では経験のできないような濃密な時間を過ごした友人達、生活の支援を最後までしてくださったドイツ人の知人達、慣れないドイツで家族を支えてくださった日本人の皆様にもこの場を借りてお礼申し上げます。帰国後はまず一般病院への勤務となりますが、臨床研究という形で臨床薬理学の発展に貢献できればと考えております。また、今後研究機関に戻った際には留学で得た

技術を生かし、学会の発展に貢献できるよう努めていく所存です。今後ともご指導の程よろしくお願い申し上げます。

## 文 献

- 1) Glorie LL, Verhulst A, Matheussen V, Baerts L, Magielse J, Hermans N, et al. DPP4 inhibition improves functional outcome after renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2012 ; **303** (5) : F681-8. doi : 10.1152/ajprenal.00075.2012.
- 2) Katagiri D, Hamasaki Y, Doi K, Okamoto K, Negishi K, Nangaku M, et al. Protection of glucagon-like peptide-1 in cisplatin-induced renal injury elucidates gut-kidney connection. *J Am Soc Nephrol*. 2013 ; **24** (12) : 2034-43. doi : 10.1681/ASN.2013020134.
- 3) Remm F, Kränkel N, Lener D, Drucker DJ, Sopper S, Brenner C. Sitagliptin accelerates endothelial regeneration after vascular injury independent from GLP1 receptor signaling. *Stem Cells Int*. 2018 ; **2018** : 5284963. doi : 10.1155/2018/5284963.
- 4) Iwakura T, Zhao Z, Marschner JA, Devarapu SK, Yasuda H, Anders HJ. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor teneligliptin accelerates recovery from cisplatin-induced acute kidney injury by attenuating inflammation and promoting tubular regeneration. *Nephrol Dial Transplant*. 2019 Jan 8. doi : 10.1093/ndt/gfy397. [Epub ahead of print]
- 5) Viggiano D, Capasso A, Capasso G. A quest for protecting kidneys from cisplatin toxicity. *Nephrol Dial Transplant*. 2019 Feb 27. pii: gfgz029. doi : 10.1093/ndt/gfgz029. [Epub ahead of print]