

バンコマイシンによる腎障害発現機序の解明および 保護薬物の探索に関する研究

坂本, 裕哉

<https://hdl.handle.net/2324/1806961>

出版情報：九州大学, 2016, 博士（臨床薬学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名	坂本 裕哉
論文名	バンコマイシンによる腎障害発現機序の解明および保護薬物の探索に関する研究
論文調査委員	主査 九州大学大学院 薬学府 教授 大戸 茂弘 副査 九州大学大学院 薬学府 教授 小柳 悟 副査 九州大学大学院 薬学府 教授 家入 一郎 副査 九州大学大学院 薬学府 准教授 松永 直哉

論文審査の結果の要旨

バンコマイシン塩酸塩(VCM)は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)感染症の第一選択薬であるが、腎障害への配慮が不可欠である。VCMによる腎障害の発現時には、治療の変更や中止を余儀なくされ、感染症治療の失敗につながる恐れもあることから、臨床では、有効性の確保と腎障害の回避を目的として治療薬物モニタリング(TDM)が実施されている。しかしながら、重症感染例や高齢者等の腎機能低下例においては、血中濃度管理が困難なケースも少なくなく、TDM以外の対策法は確立していない。一方で、VCMによる腎障害の発現機序に関しては、ラットでの検討から尿細管への直接的な障害や酸化ストレスの関与が示唆されているが、詳細は依然として不明である。本研究では、VCMによる尿細管上皮細胞障害の発現機序の詳細を解明し、得られた分子機構を考慮した保護薬物の探索を行うことを目的として研究がなされた。

まず、VCMによる尿細管上皮細胞の障害発現機序について、ROSやミトコンドリアの役割に着目して解明すると共に、各種抗酸化薬の効果を評価することを目的とした。VCMはLLC-PK1細胞に対し、時間依存的にアポトーシスによる細胞死を引き起こすとともに、細胞内ROSやミトコンドリアスーパーオキシドの産生を増加させた。さらに、VCMによりミトコンドリア膜リン脂質であるカルジオリピンの過酸化や、ミトコンドリア脱分極等のミトコンドリア機能障害が生じ、それらは脱共役薬 FCCPにより有意に抑制された。FCCPは、VCMによるミトコンドリア由来ROSの増加や、細胞障害の発現に対しても抑制効果を示した。その一方で、脂溶性抗酸化薬ビタミンEや、ミトコンドリア標的抗酸化薬 MitoTEMPOが、VCMによる LLC-PK1の細胞障害やミトコンドリア機能障害の発現に対して抑制効果を示したが、水溶性抗酸化薬ビタミンCや、N-アセチルシステイン、グルタチオンは、有意な効果を示さなかった。これらの結果より、VCMによる尿細管上皮細胞のアポトーシスの発現に、ミトコンドリア由来ROSの産生増加、ならびにカルジオリピンの過酸化等のミトコンドリア機能障害が重要な役割を担うことが明らかとなった。加えて、ビタミンEやMitoTEMPOを用いて、ミトコンドリアROSを効果的に消去すると、VCMによる尿細管上皮細胞死が抑制されたことから、ミトコンドリアROSの制御が腎障害の低減に有用である可能性が考えられた。

次に、VCMによる尿細管上皮細胞のアポトーシスについて、より詳細な発現機序の解明を目的として、Mitogen-activated protein kinase (MAPK)に着目して検討された。VCMはLLC-PK1細胞に対し、各種MAPKである、c-jun N-terminal kinase (JNK)、p38 MAPKおよびExtracellular signal-regulated kinase (ERK)の活性化を引き起こしたが、VCMによるアポトーシスやミトコンドリア脱分極に対して、JNK阻害薬のみが顕著な抑制効果を示した。しかしながら、VCMによるROSの増加に対してJNK阻害薬は効果を示さず、VCMによるJNK活性化はビタミンEの併用下においても抑制されなかった。一方で、細胞膜透過性cAMPアナログであるDBcAMPは、VCMによるJNK活性化を有意に抑制するとともに、VCMによるアポトーシスやミトコンドリア脱分極を有意に抑制したが、ROSの増加には効果を示さなかった。これらの結果より、VCMによるアポトーシス誘導因子としてROSと共にJNKが重要な役割を担うこと、およびJNKはROSと異なる分子機構で障害発現に関与することが明らかとなった。さらに、cAMPアナログは、JNK活性化の抑制を介してVCMによる尿細管上皮細胞死を抑制したことから、細胞内cAMPやJNK活性化の制御が、VCMによる腎障害の抑制に有用である可能性が考えられた。

本研究により、VCMによる尿細管上皮細胞障害の発現機序として、ミトコンドリア由来ROSの産生やJNK活性化、ミトコンドリア機能障害が重要な役割を担うことが明らかとなった。また、脂溶性抗酸化薬やミトコンドリア標的抗酸化薬が、ミトコンドリアROSを効果的に消去した。さらにcAMPアナログがJNK活性化を抑制することで、VCMによる尿細管上皮細胞のアポトーシスを抑制した。これらの薬物はVCMによる腎障害に対する保護薬物としても有用である可能性が示された。これらのことから、申請者は博士（臨床薬学）の学位に値すると認める。