

【各論】
新しい腎性貧血治療薬：HIF-PHI

HIF の多面的作用と貧血への作用機序*

山崎智貴** 田中哲洋**

はじめに

低酸素誘導因子 (hypoxia-inducible factor : HIF) は低酸素で誘導される転写因子であり、細胞の低酸素応答に関与する遺伝子群の発現を協調的に誘導する。HIF の主要な機能として内因性 EPO 産生誘導が挙げられ、HIF 活性化薬は腎性貧血の新しい治療薬として期待されている。2019 年度のノーベル医学・生理学賞に、細胞の低酸素応答、HIF のメカニズムを解明した 3 人の研究者が受賞されたことからも、HIF は全世界で注目されていることがわかる。また、2019 年に透析患者の腎性貧血に対して HIF 活性化薬 (PHD 阻害薬) の一つである roxadustat (ロキサドュスタッフ) (商品名エベレンゾ[®]錠) が販売を開始され、さらにロキサドュスタッフ以外にも現在 4 剤が国内で開発中であり、vadadustat (バダデュスタッフ)、daprodustat (ダプロデュスタッフ) や enarodustat に関しては、2019 年に透析患者だけではなく保存期 CKD 患者に対しても製造販売承認申請をしており、保存期 CKD 患者への適応拡大も期待されている。また、HIF 活性化は腎性貧血だけではなく、脂質代謝を改善させる作用も臨床試験から報告されており、さらには組織の低酸素適応応答を促すことから、虚血障害を共通背景に有する

腎障害に対して保護効果をもつ可能性もある。本稿では、このような HIF 活性化の多面的な効果について腎性貧血を中心に腎臓病、代謝異常に焦点をあてつつ概説する。

I 腎性貧血に対する効果

HIF 活性化は、EPO 遺伝子の転写誘導を介して内因性の EPO 産生を促す。腎臓では HIF-1 α が尿細管上皮細胞に、HIF-2 α が血管内皮・間質細胞に認められており¹⁾、腎臓での EPO 産生部位が HIF-2 α の発現部位に一致することや、EPO 産生を担うとされている線維芽細胞を低酸素にすると HIF-2 α の発現が亢進することや²⁾、HIF-2 α ノックダウンマウスが貧血を呈することから³⁾、HIF-2 α が EPO 産生に主にかかわっていると考えられている。EPO は約 90% が腎皮質と髓質外層の尿細管周囲線維芽細胞で産生されており、残りの 10% が肝臓を中心とした他臓器で産生されている。両側腎臓摘出後の透析患者であっても、HIF 活性化によって血中 EPO 濃度の上昇が認められたとの報告があり、肝臓をはじめとする腎臓以外の臓器において EPO 産生が推測されている⁴⁾。

HIF 活性化薬は、EPO 産生を内因性に増やすだけではなく、鉄代謝にも影響を与えることで造血

* The various effects of HIF and its mechanism for renal anemia

key words : hypoxia-inducible factor, 低酸素, 腎性貧血, roxadustat

** 東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科 YAMAZAKI Tomotaka, TANAKA Tetsuhiro
(〒113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1)

を亢進させる。ヘプシジンは主に肝臓から分泌される鉄調節ホルモンであり、鉄の輸送体であるフェロポルチンと結合し分解をすることで、消化管からの鉄吸収や、肝細胞からの鉄の放出やマクロファージからの鉄のリサイクルを抑制することにより、造血に利用できる鉄が抑制される。HIF の活性化によってヘプシジン産生が抑制されることが報告されており、鉄利用を促進させる働きがあると考えられている。また、HIF は腸管の divalent metal transporter 1 (DMT1) や duodenal cytochrome b (DCYB) の発現にも関与し、HIF を活性化させることで腸管からの鉄吸収を増加させる。また、血清での鉄輸送にかかわるトランスフェリンやトランスフェリン受容体は HIF の標的遺伝子であり、その発現増加により鉄利用が亢進する⁵⁾。CKD 患者では総じて血清ヘプシジン値が高くなる傾向があるが、ヘプシジン高値は ESA 抵抗性貧血の主要な原因の一つとして考えられており、HIF 活性化薬による体内の鉄利用の最適化は、貧血改善効果を促進する可能性がある。

これまでに行われたヒト臨床試験により、HIF 活性化薬の腎性貧血治療薬としての有効性が報告されている。中国で行われたロキサドユスタットの第Ⅲ相試験においては、保存期慢性腎不全患者において Hb 値の上昇がロキサドユスタット群で 1.9 ± 1.2 g/dL、ヘプシジンの低下もロキサドユスタット群で 56.14 ± 63.40 ng/mL と認められており⁶⁾、維持透析患者においても ESA 製剤からの切り替えで Hb 上昇に関しては ESA に対して非劣性が認められ、ヘプシジンの低下 (30.2 ng/mL) も認められている⁷⁾。その他の 4 剤の PHD 阻害薬においても、同様に保存期腎不全患者と維持透析患者において Hb 上昇の効果が報告されており、HIF 活性化による腎性貧血に対する有効性を立証している。

現在の腎性貧血による治療の中心は ESA 製剤であり、総じて有効性・安全性ともにきわめて高い治療法であるが、今後克服されるべき臨床的課題が残されているのも実情である。例えば、心血管イベントを評価した大規模な無作為化試験である CHOIR 試験と TREAT 試験において、ESA 治

療によって Hb 高値を目標とした群ではそれぞれ、心血管イベントの発生と脳血管障害の発生が有意に増加した^{8,9)}。さらに、ESA 低反応性は腎性貧血患者の 5~10% に認められることが知られている。HIF 活性化による腎性貧血の治療にて、高用量の ESA 投与と相關する心血管イベントリスクへの影響や、鉄利用効率を高めることで ESA 低反応性に対する効果も期待ができ、HIF 活性化薬は ESA 製剤の抱えていた問題を解決する手段になる可能性がある。

II 腎臓病に対する効果

1. CKD 進行のメカニズム

CKD の進行過程において、腎臓における虚血と低酸素の悪循環が起こることが重要とされている。実験的には、かなり早期より尿細管周囲毛細血管 (PTC) の血流低下や消失が認められることが報告されている。例えば、ラットの両側虚血再灌流モデルでは 4 週目に PTC の減少が認められ、マウスの虚血再灌流モデルでも、蛍光微小血管造影によって 8 週目に PTC の灌流域の低下が証明されている¹⁰⁾。さらに PTC の血流低下や消失によって、尿細管細胞が低酸素状態に曝されることで、尿細管細胞のアボトーシスの誘導、TGF-β や CTGF などの線維化促進因子の誘導が起り、間質線維芽細胞の活性化、コラーゲンなどの細胞外基質の産生の増加が起り、間質線維化を進行させる。間質線維化自体も、尿細管細胞と PTC 間の酸素拡散能力を低下させることが報告されており¹¹⁾、低酸素の悪化の原因となっている。これらが悪循環を作ることで、CKD が進行していくと考えられている。さらに残存糸球体数減少による hyperfiltration がもたらすネフロンの酸素需要の増加、酸化ストレスによる NO 産生低下やミトコンドリア脱共役、腎性貧血による酸素運搬能の低下などによっても、この虚血・低酸素の悪循環は進行していく。

2. HIF 活性化による CKD 治療の可能性

HIF 活性化の手法は、腎性貧血に対してだけで

はなく、慢性虚血・低酸素の悪循環を改善させることで腎保護効果をもたらす可能性がある。本仮説は従来動物実験モデルにおいて検証されてきた。虚血再灌流障害ラットのモデルでは、HIFの活性化によって急性期の尿細管障害が軽減されたと報告されており¹²⁾、さらに虚血再灌流障害を長期観察(AKI to CKD transition)したところ、HIF活性化薬の前投与により腎線維化を抑えられる結果が報告されている¹³⁾。さらに、Thy-1腎炎ラットや5/6腎摘ラット、STZ-誘発糖尿病ラットなど、HIF活性化による尿細管間質障害の軽減が証明されている実験的CKDモデルは多数ある。

しかし5/6腎摘のラットにおいて、PHD阻害薬を長期投与した研究では、中期(4~12週)にHIF活性化薬を投与したところ、過去の報告と同様、尿細管障害は改善したが、長期(2~12週)に投与した群では悪化した結果となっており、HIFの持続的活性化は腎線維化増悪に寄与する可能性も懸念される¹⁴⁾。また、多発囊胞腎モデルのマウスでは、進行した多発性囊胞腎の場合にはHIFの活性化による囊胞増大が認められたとの報告もある¹⁵⁾。このように、PHD阻害あるいはHIF活性化が長期的にCKDそのものに及ぼしうる影響については、原疾患や病期など多因子によって影響されると考えられ、現在進行中の臨床試験やさらなる基礎実験での検討が必要である。

III 代謝異常に対する効果

最近の研究では、HIF活性化薬は貧血や腎保護効果だけではなく、肥満や脂質異常症、糖尿病にも有益である可能性が示唆されている。Phd2 hypomorphマウスによる検討では、同マウスは野生型対照群と比較して体重減少、脂肪組織の減少、脂肪細胞の大きさの低下や脂肪組織の炎症軽減が認められた。またコレステロール値が低下し、耐糖能・インスリン感受性も改善していた¹⁶⁾。また、LDL受容体欠損のマウスに高脂肪食を摂取させたところ、PHD阻害薬の内服によって同様に体重減少や脂肪細胞の大きさの低下、脂肪組織の炎症の改善、脂質異常症やインスリン抵抗性の

改善効果が認められ、その結果、動脈プラークが50%近く減少した¹⁷⁾。これらの効果は、HIFを活性化させることにより骨格筋でのグルコース輸送と解糖系の酵素が増えることや、白色肥満組織へのマクロファージの侵入が抑えられることで、体重減少や脂肪組織の減少、耐糖能やインスリン感受性が高まるためと考えられている。さらにはHIFが活性化されることで、INSIG-2という小胞体膜蛋白の遺伝子の転写が促進され、HMG-CoA還元酵素をユビキチン化し分解することで脂質異常症を改善させる機序も報告されている¹⁸⁾。実際に、ロキサドユstattの第Ⅲ相試験において、保存期腎不全患者において、ロキサドユstatt内服群でプラセボ群よりも総コレステロール値で32.9 mg/dL、LDLコレステロール値で21.2 mg/dLの低下が認められており、同様に維持透析患者においても、総コレステロール値で22 mg/dL、LDLコレステロール値で18 mg/dLの低下が認められている^{8,9)}。

IV 懸念されている副作用

PHD阻害によるHIFの活性化は、赤血球造血や虚血による臓器障害、さまざまな代謝異常症に対して有効性が報告されているが、その他にも多面的な影響を及ぼすことが想定される。そのなかでも、血管新生による網膜症や癌の進展と増悪に対する影響は最も懸念されている。血管内皮細胞増殖因子(VEGF)はHIFの標的遺伝子であるために、PHD阻害薬によるHIF活性化は糖尿病性網膜症の悪化や悪性腫瘍の増悪に寄与する可能性がある。現在報告されているPHD阻害薬による第Ⅱ相試験の結果では、VEGFの上昇は認められていないが¹⁹⁾、HIFの活性化は悪性腫瘍に対する化学療法と放射線治療抵抗性も増強することも報告されている^{20,21)}。癌の進行や網膜症の悪化以外にも、肺高血圧なども看過されえない理論的な副作用であり、これらに対する安全性は今後、大規模臨床試験で検討が必要な非常に重要な問題である。

また、中国で行われた第Ⅲ相の臨床試験において、ロキサドユstatt群にて保存期CKD患者

文 献

と血液透析患者とともに、高K血症と代謝性アシドーシスの合併症が有意に増えたことが報告された^{8,9)}。ダプロデュスタットにおける臨床試験にても、血液透析患者にて高K血症の副作用が有意に増えることが報告されており、この副作用はHIF活性化薬のクラス効果である可能性がある²²⁾。さらに、2019年9月に製造販売承認を取得したロキサドュスタットの添付文書上では重大な副作用として血栓塞栓症(3.4%)が挙げられており、警告として、「本剤投与中に、脳梗塞、心筋梗塞、肺塞栓等の重篤な血栓塞栓症があらわれ、死亡に至るおそれがある。本剤の投与開始前に、脳梗塞、心筋梗塞、肺塞栓等の合併症及び既往歴の有無等を含めた血栓塞栓症のリスクを評価した上で、本剤の投与の可否を慎重に判断すること。また、本剤投与中は、患者の状態を十分に観察し、血栓塞栓症が疑われる徴候や症状の発現に注意すること。血栓塞栓症が疑われる症状があらわれた場合には、速やかに医療機関を受診するよう患者を指導すること」と記載されている。高K血症や血栓塞栓症の詳しい機序は現在のところ不明であり、その機序についても基礎研究や大規模臨床試験での検討は必要である。

おわりに

HIF活性化薬は透析患者の腎性貧血に対して承認され、販売を開始された。ESAよりも生理的なEPO濃度範囲内でHb値を上昇させ、そしてヘプシンを低下させ、鉄代謝を改善させることで、現在ESAが抱えている副作用やESA低反応例などの問題を解決する可能性がある。さらに、その機序から、慢性低酸素状態を背景に有する腎臓病そのものへの治療効果や肥満、脂質異常や糖尿病などの代謝異常症への有効性が提唱されており、今後の展開が期待される。一方で、悪性腫瘍の進展や網膜症の増悪など潜在的な副作用、そして大規模臨床試験で明らかになった高K血症と代謝性アシドーシスの副作用、添付文書で警告されている血栓塞栓症など、検討すべき事項についても基礎研究やさらなる臨床試験での検討が必要である。

- 1) Aeberhard JM, Schneider PA, Vallotton MB, et al : Multiple site estimates of erythropoietin and renin in polycythemic kidney transplant patients. *Transplantation* **50** : 613–616, 1990
- 2) Paliege A, Rosenberger C, Bondke A, et al : Hypoxia-inducible factor-2alpha-expressing interstitial fibroblasts are the only renal cells that express erythropoietin under hypoxia-inducible factor stabilization. *Kidney Int* **77** : 312–318, 2010
- 3) Kojima I, Tanaka T, Inagi R, et al : Protective role of hypoxia-inducible factor-2alpha against ischemic damage and oxidative stress in the kidney. *J Am Soc Nephrol* **18** : 1218–1226, 2007
- 4) Bernhardt WM, Wisener MS, Scigalla P, et al : Inhibition of prolyl hydroxylases increases erythropoietin production in ESRD. *J Am Soc Nephrol* **21** : 2151–2156, 2010
- 5) Mastrogianaki M, Matak P, Keith B, et al : HIF-2alpha, but not HIF-1alpha, promote iron absorption in mice. *J Clin Invest* **119** : 1159–1166, 2009
- 6) Chen N, Hao C, Peng X, et al : Roxadustat for Anemia in Patients with Kidney Disease Not Receiving Dialysis. *N Engl J Med* **381** : 1001–1010, 2019
- 7) Chen N, Hao C, Liu BC, et al : Roxadustat Treatment for Anemia in Patients Undergoing Long-Term Dialysis. *N Engl J Med* **381** : 1011–1022, 2019
- 8) Pfeffer MA, Burdmann EA, Chen CY, et al : A trial of darbepoetin alfa in type 2 diabetes and chronic kidney disease. *N Engl J Med* **361** : 2019–2032, 2009
- 9) Singh AK, Szczech L, Tang KL, et al : Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. *N Engl J Med* **355** : 2085–2098, 2006
- 10) Kramann R, Tanaka M, Humphreys BD : Fluorescence microangiography for quantitative assessment of peritubular capillary changes after AKI in mice. *J Am Soc Nephrol* **25** : 1924–1931, 2014
- 11) Norman JT, Clark IM, Garcia PL : Hypoxia promotes fibrogenesis in human renal fibroblasts. *Kidney Int* **58** : 2351–2366, 2000
- 12) Bernhardt WM, Campean V, Kany S, et al : Preconditional activation of hypoxia-inducible factors ameliorates ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* **17** : 1970–1978, 2006
- 13) Kapitsinou PP, Jaffe J, Michael M, et al : Preischemic targeting of HIF prolyl hydroxylation inhibits fibrosis associated with acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* **302** : F1172–F1179, 2012
- 14) Yu X, Fang Y, Ding X, et al : Transient hypoxia-inducible factor activation in rat renal ablation and reduced fibrosis with L-mimosine. *Nephrol (Carlton)* **17** : 58–67, 2012
- 15) Kraus A, Peters DJM, Klanke B, et al : HIF-1α promotes cyst progression in a mouse model of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int*

94 : 887-899, 2018

- 16) Rahtu-Korpela L, Karsikas S, Horkko S, et al : HIF prolyl 4-hydroxylase-2 inhibition improves glucose and lipid metabolism and protects against obesity and metabolic dysfunction. *Diabetes* **63** : 3324-3333, 2014
- 17) Rahtu-Korpela L, Maatta J, Dimova EY, et al : Hypoxia-inducible factor prolyl 4-hydroxylase-2 inhibition protects against development of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **36** : 608-617, 2016
- 18) Hwang S, Nguyen AD, Jo Y, et al : Hypoxia-inducible factor 1alpha activates insulin-induced gene 2(Insig-2) transcription for degradation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA reductase in the liver. *J Biol Chem* **292** : 9382-9393, 2017
- 19) Haase VH : HIF-prolyl hydroxylases as therapeutic targets in erythropoiesis and iron metabolism. *Hemodial Int* **21** : S110-S124, 2017
- 20) Meijer TW, Kaanders JH, Span PN, et al : Targeting hypoxia, HIF-1, and tumor glucose metabolism to improve radiotherapy efficacy. *Clin Cancer Res* **18** : 5585-5594, 2012
- 21) Comerford KM, Wallace TJ, Karhausen J, et al : Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the multidrug resistance (MDR1) gene. *Cancer Res* **62** : 3387-3394, 2002
- 22) Meadowcroft AM, Cizman B, Holdstock L, et al : Daprodustat for anemia : a 24-week, open-label, randomized controlled trial in participants on hemodialysis. *Clin Kidney J* **12** : 139-148, 2019

告知板

(2)

■第12回透析技能2級検定試験のご案内

透析療法では、安全かつ質の高い治療技術を患者に提供することが求められていますが、医療従事者の技能を客観的に評価するシステムはありませんでした。透析技能をきちんと評価することは、質の高い医療の提供のみならず、医療機関における雇用促進、施設間格差是正に結びつくものと考えております。

このような趣旨の下、臨床工学技士を対象とした透析技能検定試験制度を2009年より導入し、昨年8月に実施した第11回透析技能2級検定試験（受験者数160名、合格者数116名、合格率72.5%）まで、のべ1,498名の方を認定して参りました。つきましては本年10月、第12回透析技能2級検定試験を実施する運びとなりましたのでご案内申し上げます。なお2014年より、看護師、准看護師の方にも受験していただけるようになりました。この機会に是非、透析技能検定の資格取得をご検討下さい。

一般社団法人 透析技能検定試験制度協議会
会長 篠田俊雄（つくば国際大学）
副会長 峰島三千男（東京女子医科大学）
実行委員長 村上 淳（東京女子医科大学）
試験委員長 江村宗郎（前田記念腎研究所）
茂原クリニック）

【検定試験の概要】

1) 検定の種類

1級検定（上級）：維持透析全般に精通し、異常時の対応が可能な技能を検定

2級検定（初級）：維持透析における初步的な業務

を遂行できる技能を検定

2) 受験資格

1級検定：2級検定登録者で5年以上の透析業務経験を有する者、もしくは2級検定登録者で透析技術認定士の資格を有する者

2級検定：看護師、准看護師、臨床工学技士の資格をもち、透析業務に1年以上勤務した者

検定資格には有効期限（5年）を設けています。

3) 検定方法

1級検定：1次試験（筆記）ならびに2次試験（面接試験*） *シナリオ課題に対する対応能力試験

2級検定：筆記ならびにバーチャル技能試験*

*映像等バーチャル技術を利用した模擬実技試験

【第12回透析技能2級検定試験の概要】

下記のように予定しております。詳細につきましては透析技能検定試験ホームページ <https://www.touseki-ginoukentei.com/> をご覧下さい。

1) 試験日：2020年10月25日（日）

2) 場所：連合会館 <https://rengokaikan.jp/>

〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台3-2-11

3) 応募者数：先着250名

4) 受験料：15,000円

5) 願書受付：2020年4月1日から9月30日まで
(定員になり次第締切)

願書等の資料は2020年3月中頃より当会ホームページ https://www.touseki-ginoukentei.com/second_class/index.html からご請求下さい。