

【プロトコール】

- ① 2回以上の外来蓄尿で1日尿蛋白0.5g以上を確認する（観察期）。
- ② そののち治療期として、ARB（プロプレス）を当初4週間は4mg/日、認容性を確認後、原則として8mg/日に増量してfollowする。認容性を認めなければ4mg/日のまま持続投与）を1年半投与する。1カ月間隔で採血と1日蓄尿を行うが、観察期（B）（2回）、治療期（T）0, 1, 3, 6, 12, 18ヶ月日は特殊検査も含め必須に行う（測定項目は生化学検査・血圧・腎機能など調査表を参照）。
- ③ 血圧管理：外来随時血圧（座位）を第一優先とするが、家庭血圧も併用し比較検討する。家庭血圧は少なくとも、ARB開始前、後の一週間は朝、夕に測定する。
- ④ ARBの尿蛋白減少効果とこれに影響を及ぼすと推測される臨床病理・生理学的指標を調査する（アンギオテンシン変換酵素などの遺伝子型、サイトカイン、腎生検所見）。
- ⑤ 食事栄養調査をARB投薬前及び治療期に一度ずつ合計2回行う（ARBの効果に影響を及ぼすと考えられる塩類摂取を主に調査する）。

【注意】

- ① ARB投与後に急激な血圧低下を示す例がある（血漿レニン値が高い症例は注意する）。
- ② 血清Cr \geq 1.5mg/dlの腎機能低下例では、血清KやBUN, Crの急上昇を示す症例があるので、腎機能低下例は投与後1週間以内は、注意を要す。
- ③ 今回の研究ではARBは降圧剤としてではなく、降圧機序とは独立した、腎保護作用の可能性を検討するものです。従って、あえて目標血圧を設定しません。しかしJNCVI等の報告を勘案し、今回の研究では外来随時血圧:125/75mmHg前後までは十分、認容性があると考えます。
- ④ 本研究期間中（観察期及び治療期）は、その治療法（ARB以外の降圧剤, ステロイド, 免疫抑制剤, 抗血小板剤, 抗脂剤等, 又食事療法の変更は不可とする）。

【End-point】

- ① ARBを18ヶ月投与終了時点
- ② ARB投与中血清Cr値 $>$ 5.0mg/dlになった時点
- ③ ARB投与中血清K値 $>$ 6.0mEq/lになった時点
- ④ 主治医が研究継続を不可と判断した時点
- ⑤ 疾患活動性が高いと判断し、ステロイドや免疫抑制薬を追加・増量した時点

【評価】

- ① ARBによる尿蛋白減少効果 (%
- Δ
- UP) を算出する。

$$\% \Delta \text{UP} = [(\text{治療前の尿蛋白量 (g/日)} - \text{治療後の尿蛋白量 (g/日)}) \div \text{治療前の尿蛋白量 (g/日)}] \times 100$$

ただし、前後の尿蛋白は測定値を平均して算出する。感冒や運動、蓄尿不十分などによってはずれ値と考えられたものは除外する。

- ② 腎生検所見について、疾患活動性スコア activity-index (AI) と慢性化スコア chronicity-index (CI) を算定する。慢性化スコアは活動性の持続の結果として集積された病変の程度を表すものとする。判定は、原則として病理標本（未染2枚あるいはPASとPAM各一枚(1週間で返却します)を国立佐倉病院（城班員）へSRL便にて郵送し判定するが、代表的な病変の病理写真を腎ネット病理カンファレンスソフトウェアによって国立佐倉病院へ電送あるいは郵送しても良い。

病理学的評価（腎ネットの判定基準）

Activity index	点数	コメント
糸球体細胞増殖	0～3	0:0%, 1:<40%, 2:40～<80%, 3:80%～
管内マクロファージ浸潤	0～2	0:0, 1:軽度, 2:高度
細胞性半月体形成	0～4	0:0%, 2:1～<30%, 4:≥30%
間質細胞浸潤	0～2	0:0%, 1:1～<30%, 2:30%～

Chronicity index	点数	コメント
糸球体球状硬化	0～3	0:<10%, 1:10～<30%, 2:30～<50%, 3:50%～
分節状硬化性病変	0～3	0:<10%, 1:10～<30%, 2:30～<50%, 3:50%～
線維性半月体/癒着	0～3	0:<10%, 1:10～<30%, 2:30～<50%, 3:50%～
尿細管間質障害	0～3	0:<10%, 1:10～<30%, 2:30～<50%, 3:50%～

登 録 票

同意取得後にこの用紙で FAX をお願い致します。

《事務局》

FAX 076-222-2758

国立金沢病院内科 吉村まで

920-8650 金沢市下石引 1-1 (TEL 076-262-4161)

貴施設名		記載者氏名		貴施設 例目
患者名 (イニシャル)	姓	名	貴施設カルテ番号	
診断 <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgA 腎症</div>	1.男 2.女	年齢	歳 (<65歳であること)	
患者同意	同意取得日; 年 月 日			
チェック項目 (確認いただき、 □にチェックマー ク(√)を入れてく ださい。)	<input type="checkbox"/> 腎生検が行われていること。 <input type="checkbox"/> 腎生検から現在までに、新たにステロイド療法あるいは免疫抑制療法が開始されていないこと。 <input type="checkbox"/> 尿蛋白量が 0.5g/日以上あること。 <input type="checkbox"/> 一過性急性増悪期でないこと <input type="checkbox"/> ACE 阻害薬あるいは ARB が投与されていないか、4 週間以上 wash-out できること。 <input type="checkbox"/> 血清 Cr < 2.5mg/dl であること。 <input type="checkbox"/> 血圧<140/90 にコントロールされていること。 <input type="checkbox"/> その他のプロトコールの適応・除外基準を満たしていること。			

IgA 腎症患者調査表

記載年月日: _____年____月____日

施設名: _____ 記載者氏名: _____

該当する番号か記号を選択, 又はご記入ください。

患者氏名(イニシャル)		貴施設カルテ番号	
性	名		
性別	年齢		
1. 男	歳		
2. 女			
患者同意	同意取得日:	年	月 日
家族歴 一親等(父・母)	① IgA 腎症 ② 高血圧(父・母) ③ その他		
既往症	<input type="checkbox"/> 高血圧 <input type="checkbox"/> 糖尿病 <input type="checkbox"/> 腎盂腎炎 <input type="checkbox"/> 急性腎炎 <input type="checkbox"/> 心筋梗塞 <input type="checkbox"/> 脳血管障害 <input type="checkbox"/> 心不全 <input type="checkbox"/> 高脂血症 <input type="checkbox"/> 膠原病 <input type="checkbox"/> 肝疾患 <input type="checkbox"/> 気管支喘息 <input type="checkbox"/> アトピー性皮膚炎 <input type="checkbox"/> その他 ()		
体格	身長:	cm	, 体重: kg
IgA 腎症診断年齢	発症年齢:	歳	, 推定罹病期間: 年

【治療薬】

ARB

商品名	1日投与量 (mg)	投与開始日
プロプレス	4	年 月 日
	8	年 月 日

投与される前の内服薬

治 療 薬	降圧薬	<input type="checkbox"/> なし	薬剤名	1日量 (mg)
		<input type="checkbox"/> Ca拮抗薬		
		<input type="checkbox"/> βブロッカー		
		<input type="checkbox"/> αブロッカー		
		<input type="checkbox"/> αβブロッカー		
	利尿薬	<input type="checkbox"/> ループ利尿薬		
	抗血小板薬		<input type="checkbox"/> コメリアン (100)	
			<input type="checkbox"/> パナルジン (100)	
			<input type="checkbox"/> ペルサンチン (25)	
			<input type="checkbox"/> ワーファリン (1)	
	ステロイド		<input type="checkbox"/> プレドニン (5)	
	免疫抑制薬			
	抗脂薬	<input type="checkbox"/> HMG Co還元酵素阻害薬		
		<input type="checkbox"/> フィブラート系		
		<input type="checkbox"/> プロブコール		
		<input type="checkbox"/> ニコチン酸製剤		
<input type="checkbox"/> その他				

【治療経過 1】

	観察期 前 期	前値 1	前値 2 (開始日)	投与 1ヵ月後	投与 2ヵ月後
尿蛋白量 (g/d)					
24hCcr (ml/min/1.48m ²)					
尿量 (ml/day)					
尿 Na (mEq/L)					
尿 Ca (mg/dl)					
尿 P (mg/dl)					
尿 UN (mg/dl)					
尿 Cr (mg/dl)					
血 Cr (mg/dl)					
血 K (mEq/L)					
BUN (mg/dl)					
TP (g/dl)					
Alb (g/dl)					
Chol (mg/dl)					
LDL (mg/dl)					
HDL (mg/dl)					
血 Ca (mg/dl)					
血 Pi (mg/dl)					
血圧 (収/拡張) (mmHg)	/	/	/	/	/
脈拍 (拍/分)					

【治療経過 2】

	投与 3ヵ月後	投与 6ヵ月後	投与 12ヵ月後	投与 18ヵ月後
尿蛋白量 (g/day)				
24hCcr (ml/min/1.48m ²)				
尿量(ml/day)				
尿 Na (mEq/L)				
尿 Ca (mg/dl)				
尿 P (mg/dl)				
尿 UN (mg/dl)				
尿 Cr (mg/dl)				
血 Cr (mg/dl)				
血 K (mEq/L)				
BUN mg/dl)				
TP (g/dl)				
Alb(g/dl)				
Chol (mg/dl)				
LDL (mg/dl)				
HDL (mg/dl)				
血 Ca (mg/dl)				
血 P (mg/dl)				
血压(収/拡) (mmHg)	/	/	/	/
脈拍 (拍/分)				

【腎生検所見】 病理医が判定する

生検日： 年 月 日

Activity index (○で囲む)	糸球体細胞増殖	0	1	2	3	合計 点
	管内マクロファージ浸潤	0	1	2		
	細胞性半月体形成	0		2	4	
	間質細胞浸潤	0	1	2	3	
Chronicity index (○で囲む)	糸球体球状硬化	0	1	2	3	合計 点
	分節状硬化性病変	0	1	2	3	
	線維性半月体/癒着	0	1	2	3	
	尿細管間質障害	0	1	2	3	

【ARB 効果判定】 主治医が計算する

尿蛋白量については、変動が大きくはずれ値と判断した値を除外して平均値を算出する。

	治療前	治療後
尿蛋白量 (g/日)		
減少率 (%)		
血清 Cr (mg/dl)		
血圧	/	/

【採血採尿のチャート】

↓ 腎生検

	観察期 前期(同意書 取得)	前値 1	前 値 2 (開始 日)	投与1ヵ 月後	投与2ヵ 月後	投与3ヵ 月後	投与6ヵ 月後	投与12ヵ 月後	投与18ヵ 月後
期間コード	B0	B1	B2	T1	T2	T3	T4	T5	T6
日付	/	/	/	/	/	/	/	/	/
一日尿蛋白量	△	○	○	○	○	○	○	○	○
24hCcr	△	○	○	○	○	○	○	○	○
腎機能 NaKBUN CrCaP	△	○	○	○	○	○	○	○	○
蛋白脂質		○	○	○	○	○	○	○	○
脂質代謝 (リポ蛋白 分画;ディ スク)			○					○	
遺伝子		○							
血TGFβ 血Nox		○	○	○		○		○	○
尿サイトカ イン		○	○	○		○		○	○
家庭血圧 (練習)		●							●
食事調査			○					○	
レニン			○						

網掛け検査は SRL にて佐倉病院に送付する

遺伝子：EDTA 全血（全血のまま送付：室温）

血 TGF-β：EDTA2Na（採血後氷冷，冷却遠心分離後に凍結して送付）

尿サイトカイン：早朝尿一部（遠心して上清を凍結保存して送付）また，必ず来院時尿沈渣にて尿路感染のないことを確認してください（重要）。

※：腎生検からプロトコール開始まではなるべく1年以内であること，かつ，この間にステロイド・免疫抑制薬を開始していないこと（腎生検所見がプロトコール期間の病態を反映していることが重要）。

中央集中検査項目

【特殊な採血・採尿】

1. 遺伝子調査 (観察期のために1回だけ採血)

EDTA 採血 (14ml <u>全血のまま凍結せず</u>) アンジオテンシン関連遺伝子多型	採血日	年	月	日
---	-----	---	---	---

2. 特殊検査 :

- (A) サイトカイン・ケモカイン等：観察期 (B1, B2) と治療期 (T1, 3, 4, 5, 6)
- ・ 早朝尿の場合；一部を遠心し上清を凍結して送付してください。
 - ・ 血漿の場合；採血後血漿分離し凍結して送付してください。

(1) 早朝尿 3本 a) 早朝尿一部 10ml×2本 遠心後凍結保存)	尿 MCP-1	尿 Cr	採取日	年	月	日
	尿 MIP-1 α					
	尿 IL-6					
	尿 TGF β 1					
b) 早朝尿を専用容器1本にて冷蔵	尿中IV型コラーゲン					
(2) 血漿 EDTA2Na 5ml 採血	血漿 NOx	年	月	日		
	レニン活性 (観察期1回のみ)					
(3) 血漿 3.8%クエン酸 Na 1.8ml 採血	PAI-1	年	月	日		
	t-PA					

検体の採取が可能な施設 (採血方法の項目を参照) (4°C冷却遠心)

(4) 血漿 EDTA2Na 2ml 採血	血漿 TGF β	年	月	日
--------------------------	----------------	---	---	---

- (B) 特殊脂質：観察期・投与1年後に各1回
- ・ 採血後血清を分離し冷蔵で送付してください。

リポ蛋白分画 (ディスク電気泳動) プレーン採血 3ml	年	月	日
---------------------------------	---	---	---

MIP-1 α : macrophage inflammatory protein-1 α

MCP-1 : monocyte chemoattractant protein-1

TGF- β : transforming growth factor- β

《国立佐倉病院への検体送付はすべて SRL へ提出》

〒285-0825 千葉県佐倉市江原台2-36-2 国立佐倉病院 臨床研究部

(TEL 043-486-1151 FAX 043-486-8696)

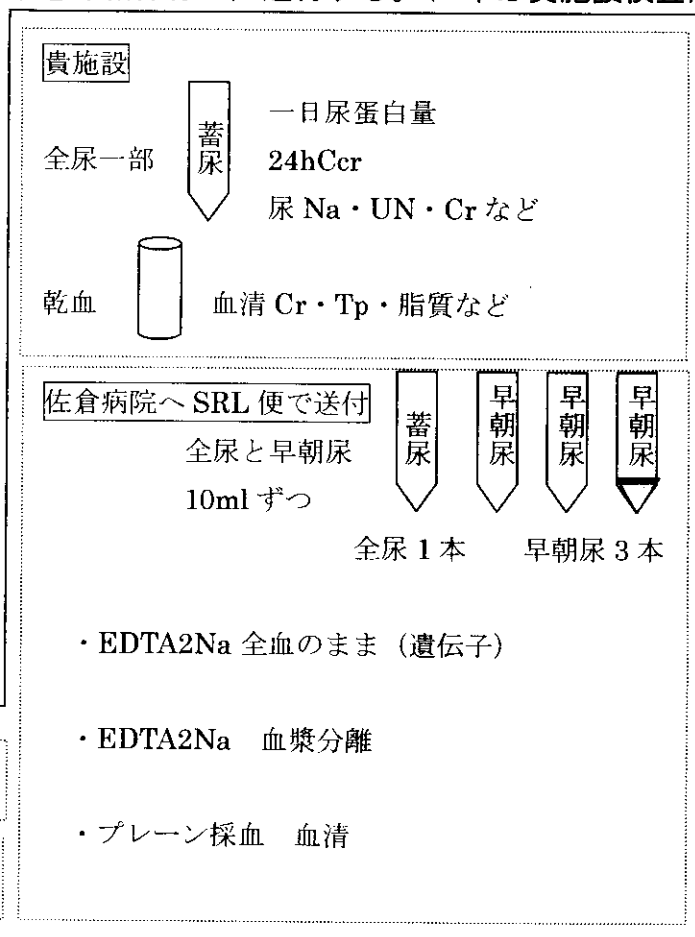
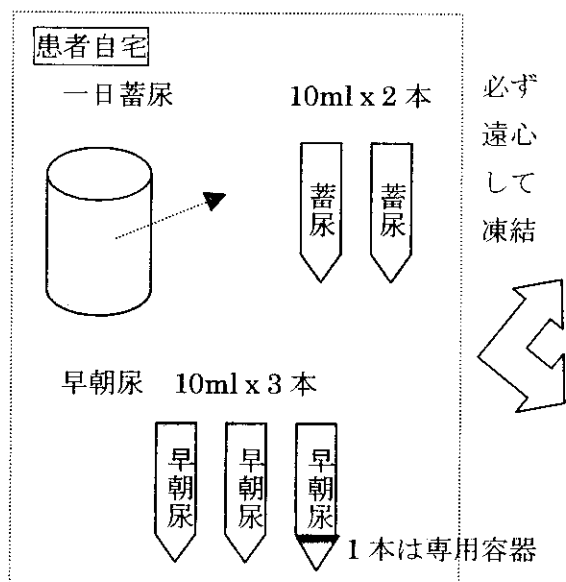
【採血採尿方法】

[血液検査]

- ① 遺伝子採血は EDTA 採血 (7ml × 2 本) で全血のまま室温で SRL へ。
- ② レニン活性, 血漿 NOx は EDTA2Na 採血 (5ml) で血漿を分離し凍結して SRL へ。
- ③ リポ蛋白はプレーン採血 (3ml) し, 血清分離後冷蔵保存 (4°C) で SRL へ。
- ④ 凝固線溶系検査は, 3.8%クエン酸 Na 採血 (1.8ml) で血漿を分離し凍結して SRL へ。
- ⑤ TGF-β は採血後直ちに氷冷し 10~60 分後, 冷却遠心 '4°C・30 分・1000G' にて血漿を分離し凍結して SRL へ。

[尿検査]

- ① 早朝尿を 10ml × 3 本とり遠心後に上清を凍結保存し, 送付する。
- ② 全尿一部 10ml × 2 本とり遠心後に上清 1 本を凍結保存し, 送付する。(1 本は貴施設検査)



佐倉へ 腎生検 (写真 or 標本)

金沢へ エントリーの FAX

分担研究者 齋籐 康 千葉大学第二内科教授
研究協力者 橋本 尚武 千葉大学第二内科
日暮 真由美 千葉大学第二内科

研究目的

A. 研究目的

糖尿病患者は国民病とも考えられるくらい増加しており、2010年には1000万人を越えると予想されている。この現象に伴い糖尿病性腎症による新規透析導入患者数は、1万1千人を越え原因疾患としては第一位である。糖尿病性腎症による透析導入患者は、多くの場合網膜症による視力障害を伴っており本人のみならず家族を巻き込んだ重大な問題であると考えられる。

糖尿病性腎症は、急激に腎不全にまで移行するわけではなく、緩徐に進行するためその発症や進行に関わる因子を同定し、それに対して介入することは、末期の糖尿病性腎症を減少させるために重要なことと考える。

糖尿病性腎症において注目され、我々も報告したものの一つにTGF- β がある。糖尿病性腎症の進展に、腎メサンギウム細胞などで産生されるTGF- β の関与が指摘されている。は4型コラーゲンやフィブロネクチンの産生を亢進する。また糖尿病性腎症との関連が言われているものの一つの炎症性サイトカインがある。中でも、IL-6, TNF- α , IL-8, MCA/MCP1 (Monocyte chemotactic and activating factor)などがある。これらケモカインによる好中球を中心とした白血球、単球/マクロファージ浸潤が腎障害の進行に深く関与している可能性がある。これらの支持するものとして、種々のサイトカインによってICAM-1やVCAM-1などの接着分子発現亢進が著明になることが知られている。

そこで私達は、腎症進展の因子を解明する目的で、腎症の第3期、すなわち持続性蛋白尿の時期の患者を対象として、尿中MIP1- α (Macrophage inflammatory peptide1- α), Fibronectin, IL-6などの測定をすることを計画した。今回は測定方法につき、測定感度などの基礎的検討を行なった。

B.方法 Fibronectinは、CHEMICON, TaKaRa, のキットを用いて-30℃, 4℃にて保存した検体を用いて測定した。MIP1- α , IL-6は、SRL スピッツ、コラーゲンスピッツを用いて-30℃, 4℃保存検体を用いて比較検討した。

C. 結果 Fibronectin: -30℃CHEMICON,にてSRL スピッツの測定では、HD群、ESRD群、CRF群でそれぞれ5.58、1.97,3.68ng/mlでLC,HCC群に比し高値であった。-30℃のコラーゲンスピッツではほぼ同様な値が得られた。-30℃TaKaRaでのSRL スピッツの測定ではそれぞれ15.8、8.85、18.69でありLC, HCC群の1.99に比し高値であった。コラーゲンスピッツを用いてもほぼ同様な値が得られた。4℃CHEMICON,SRL スピッツでは、5.84,2.2,3.97でLC,HCCが0.57で同様な傾向が見られた。4℃TaKaRa SRL スピッツでは、19.0,9.26,11.4でLC,HCC群で2.02であった。4℃TaKaRaのコラーゲンスピッツでも値はほぼ同様であった。MIP1- α とIL-6は尿では測定不能であった。

D. 考察: -30℃TaKaRaのキットで感度がよいと考えられた。-30℃TaKaRaでの測定ではスピッツの違いは認められなかった。

分担研究報告書

難治性腎疾患の病態と管理 — 血圧の管理について —

今井 潤

東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座
臨床薬学分野

緒言

腎疾患の予後を決定する最大の危険因子は血圧である。今日まで高血圧の管理は外来随時血圧によって行われてきた。しかし、随時血圧には様々な介在要因が加わり、必ずしもある個体の固有の血圧を反映しているとは考えられない。一方、家庭自己測定血圧（家庭血圧：HBP）は降圧薬の評価や、高血圧治療コストの削減に極めて有効であると考えられる。HBP の使用により降圧薬によるわずかな降圧を少数の対象で同定し得る可能性がある。これは HBP における digit preference の欠如、観察者バイアスの欠如、白衣効果の欠如などで説明されるが、最大の要因は、ある個体の血圧値を多数の平均値として得ることが可能な点であろう。降圧薬の効果を判定するのに、必要な対象数は、期待される降圧度と、観察される血圧の変動性によって規定される。今日まで、幾つかの報告で HBP においては良好な再現性が認められ、placebo 効果がないことが少数例の検討で示されてきた。本研究においては、HBP を用いた大規模観察研究である大迫研究と、日常診療における HBP を用いた placebo single blind test の結果から、HBP の再現性と placebo の効果の有無を検討し、そこから得られた指標より、placebo 対実薬の比較検討における必要対象数を算出した。

方法

HBP の再現性と placebo 効果の有無につき未治療高血圧者それぞれ 172 人、42 人で検討された。HBP は 21 日間連続測定された。両試験とも測定開始の 3 日間のデータは除外して分析された。HBP は朝、起床後 1 時間以内、排尿後、座位、服薬前(placebo)及び朝食前の条件下に 1 回のみ、また就床前 1 回のみ測定とした。

結果

再現性：第 4 日から 8 日までの 5 日間の平均と第 17 日から 21 日の 5 日間の平均の間の較差は、 $-1.9 \pm 7.0 / -1.4 \pm 4.8$ mmHg (SBP/DBP, mean \pm

SD)であり、その差は極めて小さく、再現性は良好と判断された。

Placebo 効果：placebo は 8 日間の run-in period の後に投与された。run-in period 第 4 日から 8 日までの平均と、placebo 投与中の第 17 日から 21 日の平均較差は、 $1.1 \pm 6.2 / 0.2 \pm 5.7$ mmHg であり、そこには placebo 効果が認められなかった。

有意な降圧効果を判定するのに必要な対象数：再現性と placebo 効果を知るために得た較差とその標準偏差から、HSBP/HDBP で 9/5 mmHg の降圧を有意と捉えるのに必要な症例数は、9/13 人であった。尚この 9/5 mmHg の降圧とは、本邦の降圧薬ガイドラインに基づく外来随時血圧の有効降圧度 20/10 mmHg を HBP の有効降圧度 17/9 mmHg に換算し、その 50%の値をとったものである。

考察

これまで HBP は再現性が良く、placebo 効果がないとの報告が認められているが、本研究は、多数の対象を用いて、HBP のこうした性格を確認した。これまで HBP の測定条件や、測定回数（1 度の測定機会に何回測定すべきか）のガイドラインはなかったが、我々が、ここに示した HBP 測定条件、測定回数は、HBP 測定の忍容性を高め、且つ測定条件が一定であることから、再現性を高めると考えられる。その結果、有意な降圧を証明するのに必要な症例数は、従来の随時血圧に比べて格段に少ないものとなった。こうした HBP の効果は、正しい降圧薬効果の判定、効果持続の判定、更には、医療経済に大きな影響をもたらすものと考えられる。

結論

本研究の結果は、HBP が高い再現性を有し、placebo 効果を示していないことを明らかにした。この HBP の性格は、降圧薬薬効効果判定における対象人数を大幅に減少させる。こうした HBP の性格を難治性腎疾患の血圧管理に導入することで、比較的小規模な研究対象を用い、腎疾患の進展抑制のための新たな血圧管理指標の作成が可能となろう。また今日 HBP の標準値が本邦の大迫研究の成果から明示されていることから、本総括的研究の目的である治療指針に HBP が重要な位置を占めることになる。

難治性腎疾患の進展抑制の為の新たな指標作成とそれに基づく治療指針作成に関する研究

-腎ネットワークを活用した虚血性腎疾患の発症・進展機序解明とその予防・治療法の確立に関する研究-

研究者 木田 寛 国立金沢病院副院長 (内科)

研究要旨 糖尿病性腎症に代表される進行性腎疾患は糸球体硬化・間質線維化という共通の病理所見を示し腎不全に至る。この過程において、虚血に伴う腎障害は病因を問わない重要な進展因子と考えられる。本研究では、糖尿病性腎症進展にはたすケモカイン (MCP-1) の関与ならびに虚血性腎障害に対する MCP-1 およびその機能分子制御による治療効果を検討した。その結果、ヒト糖尿病性腎症において間質を中心に産生される MCP-1 が単球/マクロファージを腎に遊走、活性化させることにより糖尿病性腎症の進展に関与することが推測された。さらに MCP-1 ならびにその機能分子の制御は虚血に伴う腎障害進展抑制を考えるうえで重要であり、新たな治療標的分子になりうることを示された。

研究協力者 金沢大学医学部附属病院血液浄化療法部 和田 隆志 (助手), 横山 仁 (助教授) 国立金沢病院内科 吉村 光弘 (医長), 伊勢 拓之

A. 研究目的

原発性糸球体疾患の代表である IgA 腎症や近年増加傾向にある糖尿病性腎症はじめ種々の進行性腎疾患は糸球体硬化・間質線維化という共通の病理所見を示し腎不全に至る。この過程において、虚血に伴う腎障害は病因を問わない重要な進展因子と考えられる。この共通進展因子の機序を明らかにすることは病態のさらなる理解とともに治療法の確立にむけ意義深いものと考えられる。一方、腎疾患治療の目標は腎疾患の各時相での発症・進展因子の理解と腎不全への進展抑制にあると考えられる。これまでわれわれはケモカイン、サイトカインおよび接着分子が単球/マクロファージを介して進

行性腎疾患の臨床活動性と良く相関し活動性および治療反応性の臨床的マーカーとなりうることを示してきた。さらに抗ケモカイン療法の基礎的検討により進行性腎障害制御の可能性を報告してきた。

本研究においては、1) 糖尿病性腎症進展機序にはたすケモカイン, monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 の意義を明かとする。2) MCP-1 産生に深く関与する p38 マップキナーゼ抑制を介した MCP-1 制御による虚血に伴う腎障害抑制効果を検討し、かかる病態の治療法の確立を目的とする。

B. 研究方法

1. ヒト糖尿病性腎症例において、MCP-1 の単球/マクロファージを介した糸球体硬化・間質線維化への役割を検討した。対象は成人 2 型糖尿病と診断された 45 例 (男 32 例, 女 13 例, 年齢 41-82 歳, 平均 61 歳) とし、臨床病期 (蛋白尿) により陰性, 微量

アルブミン, 顕性蛋白尿, ネフローゼの4群に分けた. うち23例は腎生検にて組織診断を行った. 尿MCP-1値はenzyme linked immunosorbent assay(ELISA)で測定した. さらに腎組織内のMCP-1の局在は免疫組織ならびにin situ hybridizationにより検討した.

2. マウス虚血再環流モデルにおけるMCP-1抑制を介したp38マップキナーゼ阻害剤, FR167653の効果を検討した. 左腎動脈, 静脈を60分クランプし再環流後, 4, 24, 48時間後に腎組織を得た. リン酸化p38マップキナーゼの局在を免疫組織で確認し, MCP-1mRNA発現はRT-PCR法で検討した.

C. 研究結果

1. ヒト糖尿病性腎症例におけるMCP-1の検討

MCP-1は糖尿病性腎症例において尿中値が正常対照群に比し有意に増加していた. さらに尿中MCP-1値は臨床的にネフローゼを呈する高度蛋白尿例で有意に増加した(図1). 加えて尿中MCP-1値は組織学的指標である糸球体び慢性病変の進行ならびに結節性病変, 浸出性病変, メサングリオシスの有無(図2)と相関した. 間質病変においては間質線維化, 尿細管萎縮ならびに細動脈硬化症の進行と相関した(図3). 間質内CD68陽性単球/マクロファージ数と尿中MCP-1値は正相関した. MCP-1は尿細管上皮細胞, 間質血管内皮細胞および浸潤細胞に陽性であった.

2. マウス虚血再環流モデルにおけるp38マップキナーゼ阻害剤, FR167653の効果再還流4, 24, 48時間後に観察される尿細管壊死はFR167653投与によりコントロール群に比して軽減した(図4). さらに, FR167653投与群において再還流24, 48

時間後の間質内浸潤細胞数特にF4/80陽性単球/マクロファージ数は有意に低下した(図5). さらにリン酸化p38マップキナーゼは尿細管上皮細胞, 浸潤細胞を中心に陽性であり, FR167653投与により陽性細胞数が減少した. またFR167653投与群において腎内MCP-1の発現が低下した(図6).

D. 考察

今回の検討によりヒト糖尿病性腎症において間質を中心に腎局所で産生されるMCP-1が単球/マクロファージを腎に遊走, 活性化させることにより間質線維化ならびに尿細管萎縮に代表される糖尿病性腎症の進展に関与することが推測された. これまで我々はヒト糖尿病性腎症進展における結節性病変(特にII型結節)ならびにメサングリオシスの重要性を指摘してきた. すなわちII型結節ならびにメサングリオシスはそれ自体が糸球体係蹄の構造改変を伴う病変であり非可逆的要素が強く腎症病変進展を規定する重要な病変と考えられる. さらにII型結節が虚血と深く関連するメサングリオシスの修復過程で形成されることも指摘してきた. 実際, 我々は自然発症2型糖尿病モデルであるOLETFラットに血管内皮細胞障害を惹起するモノクロタリン投与により結節性病変類似の組織変化を生じる事に成功した. このことは糖尿病性腎症の不可逆的要素の代表である結節性病変の形成には糖尿病状態にくわえて血管内皮細胞障害による虚血が必要であるとの仮説を支持する所見と考えられた. 一方, 虚血はMCP-1の重要な産生刺激である. 今回の結果においても尿中MCP-1値は虚血との関連が推測される細動脈硬化性病変, 結節性病変, 浸出性病変, メサングリオシスの有無に正相関した. 今後, 虚血とMCP-1を介し

た単球／マクロファージの関与のさらなる解明は糖尿病性腎症進展機序を考えるうえで重要と考えられた。

さらに虚血性腎疾患における MCP-1 とその産生に深く関与する p38 マップキナーゼ抑制による腎障害改善効果を検討した。マウス虚血再環流モデルにおいて p38 マップキナーゼ特異的阻害剤である FR167653 を投与したところ MCP-1 発現低下とともに腎障害が軽減した。この結果は免疫学的ならびに非免疫学的腎障害の進展過程の共通因子である虚血に対して、ケモカインとその機能分子の役割ならびに細胞内シグナル伝達制御の可能性を示すものであり、腎障害の治療を考える上で極めて重要な意味をもつものと考えられる。これまでの MCP-1 を分子標的とした抗ケモカイン療法に関しては抗体投与が主体であり、化学物質による MCP-1 ならびにその機能分子抑制については十分に評価されておらず、今回の検討は臨床応用に向けた新たな試みと考えられる。現在虚血性腎疾患に対して MCP-1 とその受容体である CCR2 のより特異的な阻害効果を遺伝子改変動物等を用いて臨床応用にむけた取り組みを行っている。

E. 結論

ヒト糖尿病性腎症では間質を中心に腎局所で産生される MCP-1 を介して単球／マクロファージを腎に遊走させることにより糖尿病性腎症の進展、特に進行期に関与することが推測された。MCP-1 ならびにその機能分子の制御は虚血に伴う腎障害進展抑制を考えるうえで重要であり、新たな治療標的分子として有用であることが示された。

F. 研究発表

学会発表

FR167653, A new anti-inflammatory compound, ameliorates renal ischemia-reperfusion injury in mice.

K Furuichi, T Wada, Y Iwata, N Sakai, K Kobayashi, H Yokoyama

p-351

XXXVIII Congress European Renal Association European Dialysis and Transplantation June 24-27, 2001, Vienna, Austria

図1 糖尿病性腎症例における尿中MCP-1値

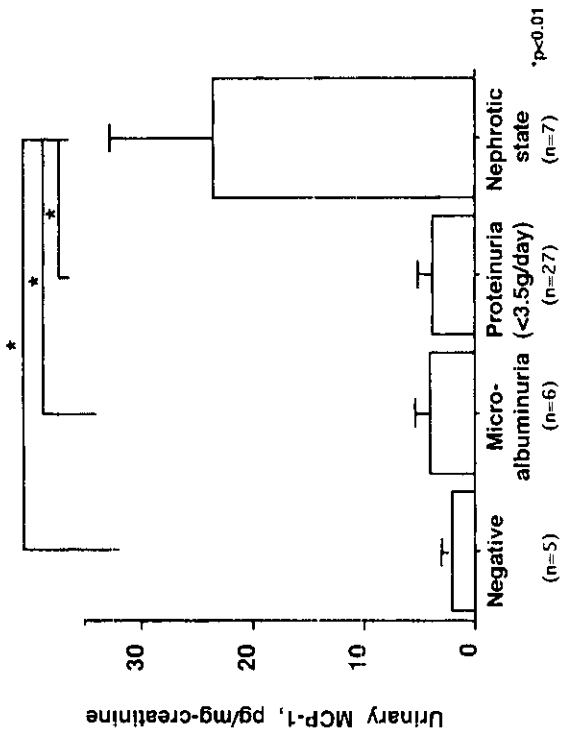


図3 糖尿病性腎症尿細管間質病変における尿中MCP-1値

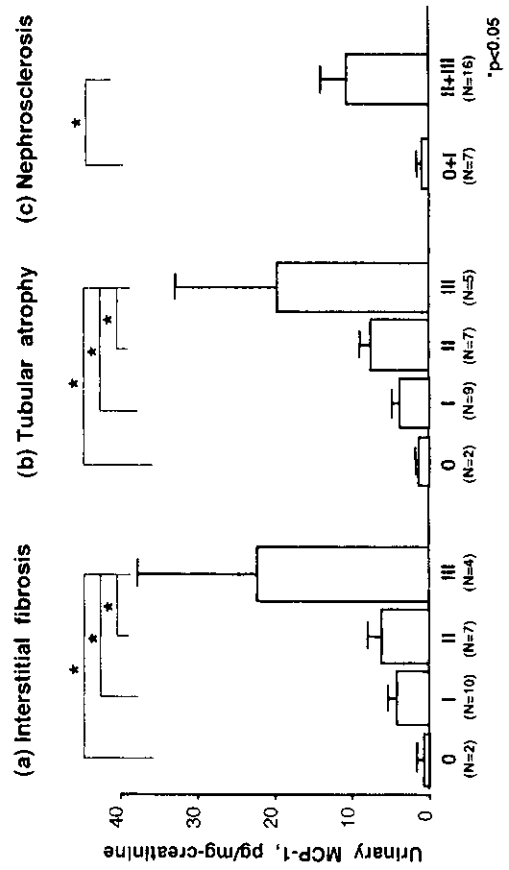


図2 糖尿病性腎症糸球体病変における尿中MCP-1値

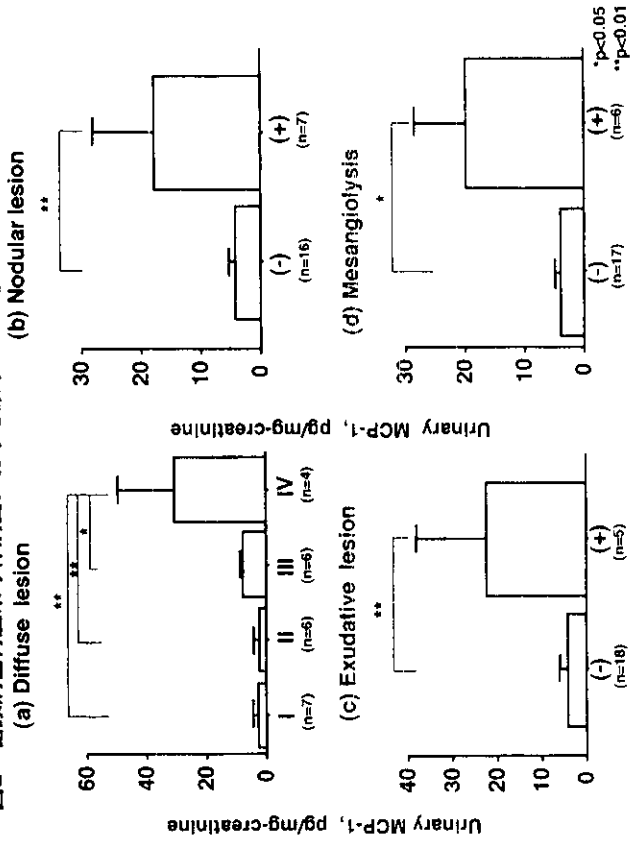


図4 尿細管壊死スコア

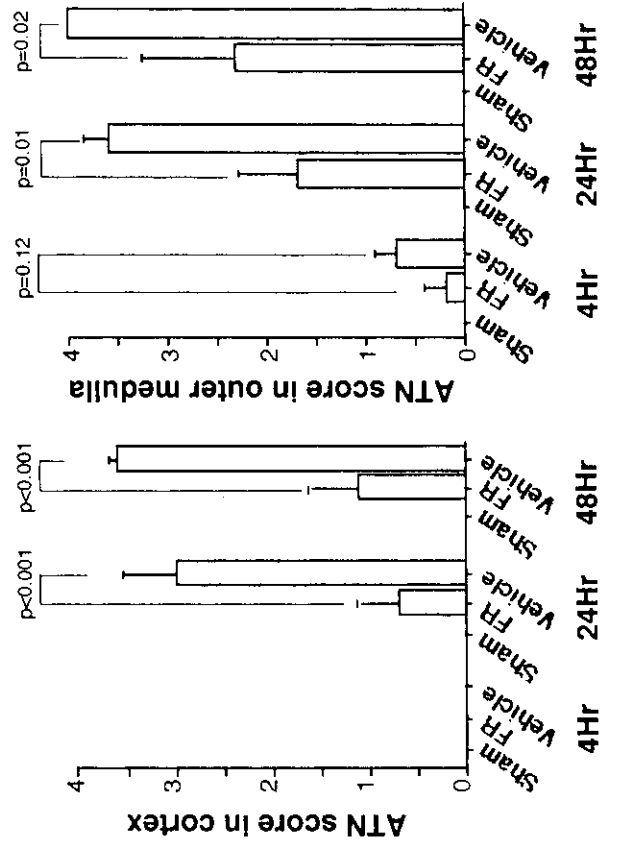


圖5 實質內細胞數

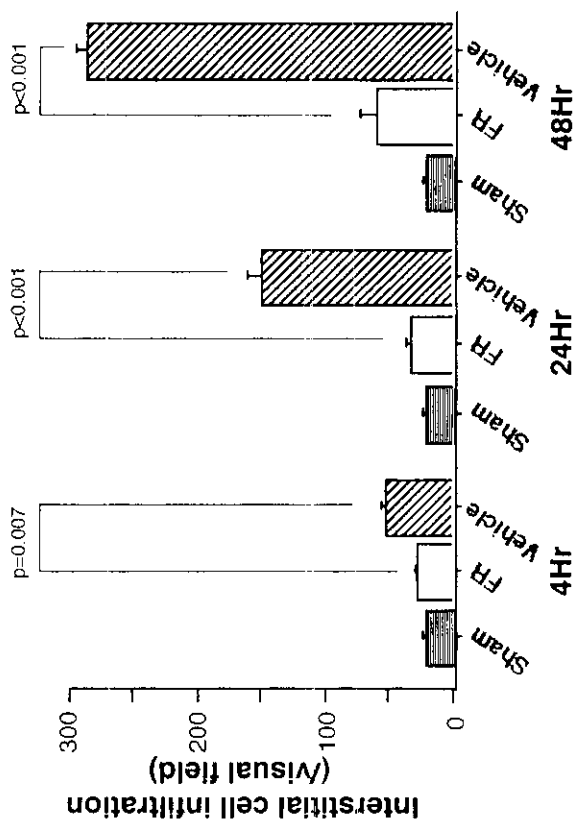
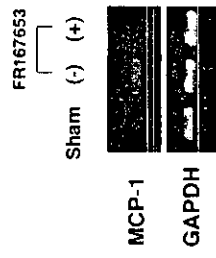


圖6 腎MCP-1 mRNA 發現



厚生科学研究費補助金(21世紀型医療開拓推進研究事業)

平成13年度報告書

ステロイド治療適用を評価するためのIgA腎症組織病変のスコア化に関する研究

分担研究者 国立佐倉病院臨床検査科 城 謙輔

研究要旨

成人IgA腎症において治療方針の決定や予後の予測など腎疾患の進展予防に役立つ腎病理の診断法とその標準化を構築し、特にステロイド治療の適用指針に有用であることを証明した。

A. 研究目的

IgA腎症治療、とくに、ステロイド(ST)療法の適応をきめる基準において、腎機能や1日蛋白量のみならず、病理形態像も重要な条件と考える。本研究では、病理組織診断を標準化しそれを治療面からスコア化することが、IgA腎症の適正な初期治療の標準化に貢献できることを示しことを目的とした。

B. 研究方法

まず、腎生検の定量的診断スケルトンを基盤として個体レベルの定量的形態要素を、ST治療の予後への有効性の観点から選択してスコア化した。スコア化では、後方視的な統計学的解析により、予後にとって最も有意性を持つスコア基準を試行錯誤により求めた。形態要素の選択には、疾患活動性や障害度を示す activity index(AI)と、疾患の進展度合いや病期を示す chronicity index(CI)を指標とした。AIでは、メサンギウム細胞の増殖、活動性管内病変、管外性の細胞性半月体、そして間質内炎症細胞浸潤の程度をスコア化し総和とした。CIとしては、分節状ならびに球状糸球体硬化度、メサンギウム基質の増加、線維性半月体、尿細管の萎縮と間質中の線維性拡大の程度をスコア化し総和とした。再燃増悪症例は、その時点で再生検をし、治療方針をたて直す観点から除外して275症例を対象とした。

C. 結果、結論

ST必要群(58例)において、実際のステロイド使用群24例(プレドニゾン換算30mg/日以上)と非使用群34例を、その予後(腎機能良好群、低下群、透析群)との関連で統計学的に比較したところ CI<5、AI>=5あるいは1日蛋白尿1g以上において最も有意性が高かった。一方、CI<5、AI<5と1日蛋白尿1g未満群のST不要群174例とCI>5のST不適當

群48例においては、STによる予後への有意差はなかった。現在、この治療チャートを臨床に役立てている。

D. 論文発表

1. IgA腎症の病理診断

標準化のための図譜厚生科学研究:医療技術評価総合研究事業 2001年。腎不全予防治療指針作成のためのネットワーク利用による医療情報の開発に関する研究。2001年。文友堂印刷

2. 腎生検診断のスケルトン(光顕、免疫、電顕)。

病理と臨床。19巻9号、927-936、2001年

3. 特集編集 糸球体腎炎の病理診断—臨床に役立つ病理診断法の手引き—。病理と臨床。19巻9号、2001年

E. 学会発表

1. Joh K, et al.:A new histological scoring system in evaluating the effect of steroid therapy for the outcome of IgA nephropathy in adults. ASN/ISN World Congress of Nephrology. October 10-17, San Francisco, USA. J Am Soc Nephrol. 12, 730A, 2001

2. ワークショップ。IgA腎症の治療戦略—ステロイド療法を中心に—。IgA腎症組織病変のスコア化と予後(ステロイド治療適用の観点から)。第31回日本腎臓学会東部学術大会 日本腎臓学会誌43巻427頁、2001年。10月。山梨

3. シンポジウム。腎疾患の病変解析への新しい形態学的アプローチ。腎糸球体疾患の腎生検診断における電顕の有用性とその補助的手法について。第33回日本電子顕微鏡学会総会。9月、長崎

厚生科学研究費補助金(21世紀型医療開拓推進研究事業)

平成13年度報告書

ステロイド治療適用を評価するためのIgA腎症組織病変のスコア化に関する研究

分担研究者 国立佐倉病院臨床検査科 城 謙輔

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル	書籍全体の編集者	書籍名	出版社
1. 城謙輔	IgA腎症の病理診断標準化のための図譜	柏原英彦	厚生科学研究:医療技術評価総合研究事業 2001年。腎不全予防治療指針作成のためのネットワーク利用による医療情報の開発に関する研究病理と臨床。	2001年。文友堂。千葉。1-46
2. 城謙輔	特集編集 糸球体腎炎の病理診断—臨床に役立つ病理診断法の手引き—	城謙輔		19巻9号、2001年。921-1003頁

雑誌

発表者	論文タイトル	発表誌	巻名	ページ
1. 城謙輔	腎生検診断のスケルトン(光顕、免疫、電顕)	病理と臨床	19巻9号	927-936, 2001年
2. 城謙輔	特集。糖尿病性腎症のすべて。Ⅲ.糖尿病性腎症の病理、臨床病理。糖尿病性腎症の合併症	腎と透析	51巻、	254-260, 2001年
3. Suzuki S et al.	Evaluation on the effect of steroid therapy for the outcome of IgA nephropathy in adults on the basis of histological scoring:A clinicopathologic study of 104 cases.	Nephrology	6(Suppl.)	A21-22