

厚生科学研究補助金 (21 世紀型医療開拓推進研究事業)
総合研究報告書

『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』

「IgA 腎症に対するアンギオテンシンⅡ受容体拮抗薬の効果に関する検討」

分担研究者 吉村光弘 国立金沢病院第二内科医長

研究要旨 これまで予測できなかった IgA 腎症に対する ACE 阻害薬およびアンギオテンシンⅡ受容体拮抗薬(ARB)の尿蛋白減少効果について、疾患活動性に関する臨床病理学的因子、マクロファージ由来のケモカインおよびアンギオテンシン変換酵素(ACE)遺伝子多型の影響を解析する。本年度は、20 例のパイロット研究によって IgA 腎症の疾患活動性と ACE 阻害薬による尿蛋白の減少効果が逆相関関係にあることを明らかにしえた。ARB が、本症に対してどの程度の尿蛋白減少効果を有しているか、さらにケモカインが非浸襲的な疾患活動性の指標となりうるかをはじめて明らかにできる臨床的な意義は大きい。

研究目的

本研究は、本邦でもっとも多い慢性腎炎の一つである IgA 腎症に対して、アンギオテンシンⅡ受容体拮抗薬(ARB)を投与し、その尿蛋白減少効果に影響する臨床・病理学・遺伝学的因子を解析することを目的としている。

B. 研究方法

国立佐倉病院 (山田研一 (班長), 鈴木理志), 国立金沢病院 (木田寛, 吉村光弘 (事務局)), 国立療養所西札幌病院 (河田哲也), 国立病院東京医療センター (猪芳亮), 国立名古屋病院 (池口宏), 国立京都病院 (菅原照), 国立大阪病院 (和田晃), 国立病院呉医療センター (小田弘明), 国立米子病院 (丸山啓輔), 国立病院九州医療センター (平野直史), 国立病院長崎医

療センター (新井勲), 国立熊本病院 (富田正郎), 黒部市民病院 (竹田慎一), 厚生連高岡病院 (池田謙三) の 15 施設と共同して、通院治療中の IgA 腎症患者を対象に共通プロトコールを使用して検討する。

具体的には、IgA 腎症の進展因子である一日尿蛋白量、細胞性半月体形成などの臨床病理学的な疾患活動性の指標と、尿中サイトカイン (尿 MCP-1 : monocyte chemo-attractant protein-1, 尿 MIP-1 α : macrophage inflammatory protein-1 alpha, 尿 IL-6 : interleukin-6, 尿 TGF- β (transforming growth factor-beta), 尿一酸化窒素 (NOx), 尿中Ⅳ型コラーゲン, ならびに血漿 NOx, PAI-1(plasminogen activator inhibitor-1), t-PA(tissue plasminogen activator), 血漿 TGF β と比較する。

病理所見は、同じ研究班の国立佐倉病院病理検査室城医師に腎生検標本を送付し、IgA 腎症の活動性および進行度スコアを算出する。また、ARB の作用に深く関与すると推測される ACE 遺伝子多型について、患者の同意を得て末梢血 14ml から DNA を分離し、解析を行う。なお、遺伝子検査は各施設の倫理委員会の承認を得て、コード化されて国立佐倉病院で検査・管理される。

C. 研究結果

今年度はパイロット研究として、20 例の IgA 腎症に ACE 阻害薬の imidapril を投与したところ、尿蛋白量は $2.4 \pm 1.7\text{g}$ から $1.5 \pm 1.2\text{g}$ へと 33%減少した ($p < 0.001$)。尿蛋白減少率と活動性スコアは $y = 4.1 - 0.05x$ の逆相関を示したが ($r = -0.84$, $p < 0.001$) が、血圧の降下度とは相関しなかった。とくに、活動性スコアが 2 点以下では尿蛋白量が 51%減少したのに対し、3 点以上では 1%であった。また、活動性スコアが 2 点以下の 13 例で検討したところ、ACE 遺伝子多型のうち DD 型で尿蛋白減少率が $61 \pm 7\%$ と高かった ($p = 0.07$)。

パイロット研究の結果を踏まえて、ACE 阻害薬と同様の尿蛋白減少効果が、ARB によっても得られるものと推測された。そこで、本年度は共同研究班を構成して、共通のプロトコールを作成し、各施設での倫理委員会に研究を申請した。平成 14 年 3 月 10 日現在で、15 施設中 11 施設で承認されて、研究が開始されている。

D. 考案

尿蛋白は IgA 腎症の予後、すなわち末期腎不全への移行を予測する最大の危険因子

であるが、疾患活動性が消失した後でも蛋白尿が持続する。尿蛋白量以外の疾患活動性のあらたな指標を見出せるかは IgA 腎症の治療戦略を立てる上できわめて重要な課題である。

本研究のもっとも革新的な点は、これまで実験腎炎レベルでしか半月体形成と関連が認められていなかった MIP- α や MCP-1 が、はじめてヒトの IgA 腎症においても経時的に測定され、非浸襲的な疾患活動性のマーカーとなりうるかが検討される点である。

また、これまで予測ができなかった ARB による尿蛋白の減少効果に、疾患活動性や ACE 遺伝子型がどのように関与しているかが明らかにされていなかった。本研究ではこの点を明らかにしえるものと考えられる。

さらに、パイロット研究では ACE 阻害薬の尿蛋白減少効果を期待するにはステロイド治療により疾患活動を十分に下げしておくことの必要性がはじめて示唆された。この点を多施設共同で症例を集積し、臨床状態を知らない病理医により判定した病理スコアとの関連を客観的に検討し、より明確にできるものと考えられる。

E. 結論

ARB が、IgA 腎症に対してどの程度の尿蛋白減少効果を有しているか、さらにその効果に ACE 遺伝子多型およびマクロファージ由来のケモカインの関与をヒトの IgA 腎症ではじめて明らかにできることの意義は大きい。

F. 研究発表

1. 学会発表

1) 小児と成人の糸球体腎炎：その異同と

carry over : 内科の立場より, IgA 腎症の疾患活動性からみた治療戦略 吉村光弘、木田寛、第43回日本腎臓学会学術総会ワークショップ7, 名古屋 (2000.5.13)

2) 「IgA腎症」も年をとる ともに考える日本人の腎炎 : IgA腎症 吉村光弘 第55回国立病院療養所総合医学会, 東京 (2000.11.9)

3) HOSPnet-IgA腎症データベースによる予後判定基準別腎生存率の検討 : 吉村光弘, 国立佐倉病院内科 鈴木理志, 同小児科 川村研, 国立療養所千葉東病院小児科 宇田川淳子, 国立東京第二病院内科 猪芳亮, 国立京都病院内科 中島康代, 国立大阪病院内科 福原吉典, 国立病院九州医療センター腎臓内科 佐内透, 第44回日本腎臓学会総会, 東京, 28, 5, 2001

2. 論文

1) Furuichi K, Wada T, Iwata Y, Sakai N, Yoshimoto K, Shimizu M, Kobayashi K, Takasawa K, Kida H, Takeda S, Matsushima K, Yokoyama H : Upregulation of fractalkine in human crescentic glomerulonephritis. *Nephron* 87(4):314-20, 2001.

2) Sakai N, Wada T, Furuichi K, Takaeda C, Shimizu M, Iwata Y, Yoshimoto K, Shimizu K, Kobayashi K, Takeda S, Kida H, Mukaida N, Matsushima K, Yokoyama H. : The role of monocyte chemotactic and activating factor (MCAF)/monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 in

subgroups of rapidly progressive glomerulonephritis *日腎誌* 41(7):704-11, 1999

3) Wada T, Furuichi K, Segawa-Takaeda C, Shimizu M, Sakai N, Takeda SI, Takasawa K, Kida H, Kobayashi KI, Mukaida N, Ohmoto Y, Matsushima K, Yokoyama H. MIP-1alpha and MCP-1 contribute to crescents and interstitial lesions in human crescentic glomerulonephritis *Kidney Int* 56(3):995-1003, 1999.

厚生科学研究費補助金 (21世紀型医療開拓推進事業)
総合研究報告書

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
—ヒト mononuclear 細胞におけるアンジオテンシン II による p22phox 遺伝子変動の解析

研究者 武玉萍 長寿科学振興財団リサーチ・レジデント
山田研一 国立佐倉病院臨床研究部部長

研究要旨

難治性腎疾患に対して、内因性アンジオテンシン系阻害による治療反応性の相違を酸化ストレス関連遺伝子 NADH/NADPH oxidase の遺伝子多型とその mRNA 発現の面から検討・解析する。今年度は NADH/NADPH oxidase, p22phox の遺伝子多型(C242T)及び mRNA 発現定量法を単球、培養血管内皮細胞と平滑筋細胞を用いて、確立予定である。

共同研究者氏名、職名：

鈴木信夫、教授
喜多和子、講師

所属施設名：

千葉大学医学部環境影響生化学

A. 研究目的

我々は難治性腎疾患の分子機構の解明及び進行性腎障害の進展を抑制するための新たな指標作成とそれに基づく新しい治療法の開発を目的とし、難治性腎疾患、特に糖尿病性腎症の慢性期の進展におけるレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系(主にアンジオテンシンII)の分子生物学的意義解明の研究を進める。

Angiotensin IIは腎臓血管内皮細胞・メサンギウム細胞及び血管平滑筋細胞でreceptorを介しNADPH oxidaseを活性化させ、O₂の産生に関与する。その詳細な機構はまだ不明な点が多い。血管平滑筋においては電子伝達系のコンポーネントのp22phox (NADPH oxidase一つのサブユニット) 関連因子に重要な役割があることが知られている。

一方、糖尿病性腎症の進展に、単球/Mφの役割が注目を集めている。そこで、①単球/Mφ, 培養血管内皮細胞・平滑筋細胞でNADH/NADPH oxidase発現とアンジオテンシン依存性の違いについて検討する。②糖尿病性腎症でのp22phox遺伝子発現の変動をNADH/NADPH oxidase遺伝子多型との関連性を含め検討する。③最後にARB治療反応性との関連で検討する。

B. 研究方法

- 1、基礎検討段階においては、健常人の血液から mononuclear細胞を分離し、RNAを抽出する。
- 2、p22phox、GAPDHのプライマーを設計する。
- 3、シーケンス法でRT-PCR後のp22phox産物の塩基配列を確かめる。
- 4、Competitive RT-PCR法を用いて、p22phox遺伝子レベルを調べる。
- 5、単球、培養平滑筋・内皮細胞を用いて、Angiotensin II処理によりp22phox遺伝子の変動を検討する。

C. 研究結果

- 1、p22phox遺伝子の塩基配列がシーケンス法で確かめた。
- 2、健常人 mononuclear細胞を Angiotensin IIを用いて、タイムコースで処理すると、p22phox 遺伝子の有意な変動が認められなかった。
- 3、腎臓血管内皮細胞・メサンギウム細胞において Angiotensin IIによるp22phox遺伝子レベルの変化が今検討中である。

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻 号	ページ	出版年
H.Okonogi M.Nishimura Y.Utsunomiya K.Hamaguchi H.Tsuchida Y.Miura S.Suzuki T.Kawamura T.Hosoya K.Yamada	Urinary type IV collagen excretion reflects renal morphological alterations and type IV collagen expression in patients with type 2 diabetes mellitus	Clinical Nephrology	Vol.55 No.5	357-364	2001
M.Nishimura T.Sasaki A.Ohishi M.Ohishi S.Kono Y.Totani Y.Kato Y.Noto S.Misaki K.Higashi F.Shimada H.Wakasugi K.Inoue Y.Hoshiyama K.Yamada	Angiotensin-converting enzyme inhibitors and probucol suppress the time-dependent increase in urinary Type IV collagen excretion of Type II diabetes mellitus patients with early diabetic nephropathy	Clinical Nephrology	Vol.56 No.2	96-103	2001

K.Yamada E.Hatakeyama T.Sakamaki M.Nishimura S. Arita K.Sakamoto K.Hamaguchi K.Nakajima M.Otsuka K.Tanabe	Involvement of Platelet-Derived Growth Factor and Histocompatibility of DRB 1 in Chronic Renal Allograft Nephropathy	Transplantation	Vol.71 No.7	936-941	2001
K.Seto H.Ikehira T.Obata K.Sakamoto K.Yamada H. Kashiwabara T.Yokoyama S.Tanada	Long-Term Assessment of Posttransplant Renal Prognosis with ³¹ P Magnetic Resonance Spectroscopy	Transplantation	Vol.72 No.4	627-630	2001
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	927-935	2001
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
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	