

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

多発性嚢胞腎に関する調査研究
「多発性嚢胞腎患者に対する降圧剤の腎保護作用に関する研究および
PPAR γ アゴニストによる ADPKD 腎不全進展抑制に関する研究」

分担研究者 東原 英二
杏林大学医学部泌尿器科教授

研究要旨

1. 多発性嚢胞腎患者に対するカルシウム拮抗薬(CaB)とアンジオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)の臨床効果を前向き無作為に比較検討した。薬剤投与前後で1/血清クレアチニン(Cr)値の差、Ccrの差、尿中アルブミン排泄量を検討すると、ARBにはCaBと比較したときADPKDに対する腎保護作用があると考えられた。2. PKD1欠損マウスを作成し、これにPPAR γ アゴニストを投与すると、PKD1欠損マウスの分子異常が改善され、嚢胞形成も抑制された。PPAR γ アゴニストはADPKDの治療に有効である可能性がある。

A. 研究目的

1. 多発性嚢胞腎では約60%に高血圧症が合併し、高血圧合併症例では腎機能悪化の進行が速い。このため本疾患の高血圧を治療することは終末期腎不全に移行する患者数を減少させる可能性がある。従来様々な腎疾患において、アンジオテンシン変換酵素阻害薬やARBの腎保護作用が証明されている。しかし多発性嚢胞腎におけるこれら薬剤の腎保護作用については十分に証明されていない。そこで既に高血圧を有している多発性嚢胞腎患者に対して、CaBとARBを前向き無作為に投与し、腎機能への影響を経時的に検討した。
2. 多発性嚢胞腎の責任遺伝子の一つ

であるPKD1を欠損したマウスを作成し、その分子異常を検討することにより、ADPKDに対する治療薬が開発できるかを検討した。

B. 研究方法

1. 全国3085病院に、腎機能が正常(血清Cr値2.0mg/dl以下)である多発性嚢胞腎患者の高血圧症に対してCaBかARBを投与する、前向きの無作為化試験の意義を説明し、患者登録の参加を呼びかけた。これにより60名の患者が登録され、20名がCaB群に、17名がARB群に割り振られ、23名の非高血圧患者は降圧剤投与なしのNT群として経過観察となった。またこれとは別に本研究班研究協力者の施設より47

名 (NT 群 12 名、CaB 群 23 名、ARB 群 12 名) の多発性嚢胞腎患者登録があった。患者は研究開始前に蓄尿と採血を施行し、クレアチニン・クリアランス (Ccr)、1 日尿中蛋白排泄量 (Uprot)、アルブミン排泄量 (Ualb) を測定した。同様の検査を研究開始後 6 ヶ月ごとに施行し、経時的变化を観察した。

2. 生殖工学の手法を用い、PKD1 遺伝子欠損マウスを作成し、その表現型を観察した。Microarray を用い包括的遺伝子解析によって発現遺伝子の変化を観察した。

C. 結果

1. 登録された 107 例中 77 例 (NT 群 25 例、CaB 群 30 例、ARB 群 22 例) の経過表が回収された。このうち CaB 群の 4 例は観察期間中に血清 Cr 値が 2 倍以上あるいは Ccr 値が 1/2 以下になったため、最終的な解析から除外した。研究開始時の男女別の平均年齢、収縮期血圧、拡張期血圧、血清 Cr 値、Ccr 値、Uprot 値、Ualb 値において CaB 群と ARB 群の間には差はなかった。収縮期血圧と拡張期血圧は CaB 群でも ARB 群でも薬剤投与後 6 ヶ月目より投与前より有意に低下した。血清 Cr 値は CaB 群は 6、12、18、24、36 ヶ月目で調査開始時より有意に高い値を示したが、ARB 群では 24 ヶ月目に開始時より有意に高い値をとっただけであった。Ccr 値は CaB 群で 18、24、36 ヶ月目で調査開始時より有意な低値を示した。しかし ARB 群では有意に変動した時点はなかった。尿中アルブミン排

泄量は調査開始時には CaB 群と ARB 群間に差はなかったが、6 ヶ月以後は全ての時点で CaB 群が有意に高値を示した。1/Cr 値、Ccr 値、Ualb 値に関して、各々 24 ヶ月目と調査開始時の差、および 36 ヶ月目と調査開始時の差を比較すると、24 ヶ月および 36 ヶ月の時点で 1/Cr の減少の程度は ARB 群で CaB 群より小さく、Ccr の減少の程度も 24 ヶ月の時点では ARB 群で CaB 群より小さかった。Ualb 値では 24 ヶ月目で ARB 群は調査開始時より Ualb が減少する傾向が見られたが、CaB 群では増加していた。

2. キメラマウスの交配によって得られた遺伝子ホモ欠損マウスは心奇形、腎嚢胞の形成を認め、胎生致死であった。PPAR γ の発現は胎生 12 日において低下していたので、PPAR γ アゴニストを投与したところ、分子異常を改善し、嚢胞形成を抑制した。

D. 考察

1. ARB は、糖尿病性腎症や非糖尿病性腎障害に対して腎保護作用があるが、多発性嚢胞腎における腎保護作用は明らかになっていない。今回の研究では多発性嚢胞腎患者に対する ARB 投与が、CaB 投与に比し、尿中アルブミン排泄量を減少させ、腎機能悪化のスピードを遅くすると考えられた。

2. PPAR γ アゴニストは現在 II 型糖尿病に対するインスリン感受性改善の目的で臨床使用されているが、抗炎症作用、細胞増殖抑制作用、血管内皮機能改善作用があることが知られてい

る。PPAR γ アゴニストがヒトの多発性
嚢胞腎においても腎不全の進行を抑
制する効果を持つ可能性がある。

E. 結論

1. アンジオテンジン II 受容体拮抗薬
は Ca 拮抗薬と比較したとき、多発性
嚢胞腎患者に対しての腎保護作用を
有する。
2. PKD1 欠損マウスは多発性嚢胞腎の
モデル動物として適切であり、PPAR γ
発現異常が関与している可能性があ
る。PPAR γ アゴニストは治療に有効で
ある可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 奴田原紀久雄、東原英二：常染色
体優性多発性嚢(3) 高血圧の機序と
治療. 臨床透析. 18：525-531, 2002.
- 2) 奴田原紀久雄、東原英二：常染色
体優性多発性嚢胞腎ー常染色体優性
多発性嚢胞腎ではACE阻害薬やアンジ
オテンシン受容体阻害薬は有効でし
ょうか？ EBM 腎臓病の治療 2003-
2004. 富野康日己, 秋葉隆編. 第1
版. pp. 282-288, 中外医学社. 東京.
2003.
- 3) 奴田原紀久雄, 東原英二：日常診療
でよく診る腎疾患の診断と治療 常
染色体優性多発性嚢胞腎. 診断と治療
91：470-473, 2003
- 4) 東原英二他：厚生労働省特定疾患

対策研究事業 進行性腎障害調査研
究班編. 常染色体優性多発性嚢胞腎
(ADPKD)診療指針. 2002.

5) Muto S, Aiba A, Saito Y, Nakao K,
Nakamura K, Tomita K, Kitamura T,
Kurabayashi M, Nagai R, Higashihara
E, Harris PC, Katsuki M, Horie S.
Pioglitazone improves the phenotype
and molecular defects of a targeted
Pkd1 mutant. Hum Mol Genet.
11:1731-42, 2002.

2. 学会発表

- 1) 奴田原紀久雄, 堀江重郎, 東原英
二：多発性嚢胞腎にたいする降圧剤の
腎保護作用. 第10回嚢胞性腎疾患研究
会. 平成14年9月
- 2) 奴田原紀久雄、東原英二：多発性
嚢胞腎患者に対するカルシウム拮抗
薬とアンジオテンシン II 受容体拮抗
薬の降圧効果と腎保護作用について.
第45回日本腎臓学会学術総会 平成
14年5月
- 3) 奴田原紀久雄、東原英二：多発性
嚢胞腎に対するカルシウム拮抗薬と
アンジオテンシン II 受容体拮抗薬の
降圧効果と腎保護作用について 第9
回嚢胞性腎疾患研究会. 平成13年9
月
- 4) 奴田原紀久雄、東原英二、境秀人
他：多発性嚢胞腎治療指針に関する厚
生労働省進行性腎障害調査研究班の
提言. 第31回日本腎臓学会東部学術
大会. 平成13年10月
- 5) 奴田原紀久雄、東原英二、境秀人：
多発性嚢胞腎に対するアンジオテン

シン II 受容体拮抗薬の腎保護作用について. 第44回日本腎臓学会学術総会. 平成13年5月

6) 東原英二、奴田原紀久雄：多発性嚢胞腎—治療指針作成と降圧剤の腎保護作用に関する前向き調査— 厚生労働省特定疾患進行性腎障害調査研究班公開シンポジウム. 第44回日本腎臓学会学術総会. 平成13年5月

7) 堀江重郎：多発性嚢胞腎の分子病理—ノックアウトマウスの解析から. ワークショップ2 遺伝性嚢胞性腎疾患研究の進歩. 第45回日本腎臓学会総会. 平成13年

8) Pioglitazone Improves the Phenotype and Molecular Defects of a Targeted *Pkd1* Mutant. Satoru Muto, Yuichirou Saitou, Eiji Higashihara, Motoya Katsuki, Shigeo Horie. Annual meeting of American Society of Nephrology, 2002

H. 知的財産の出願・登録状況
該当無し

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
各個研究報告書

PPAR γ アゴニストによる ADPKD 腎不全進展抑制

研究協力者 堀江 重郎
杏林大学医学部泌尿器科助教授

研究要旨

PKD1欠損マウスを作成し、これにPPAR γ アゴニストを投与すると、PKD1欠損マウスの分子異常が改善され、嚢胞形成も抑制された。PPAR γ アゴニストはADPKDの治療に有効である可能性がある。

A. 研究目的

多発性嚢胞腎の病態は一部の尿細管上皮細胞から嚢胞が発生し、増大する過程と、さらに嚢胞を形成しない尿細管の萎縮と、さらに嚢胞を形成しない尿細管の萎縮と、腎実質の炎症が起こり腎硬化症へと進展していくことにより機能ネフロンが減少することを特徴とする。嚢胞上皮細胞は腎尿細管細胞が脱分化し、増殖することから良性腫瘍病変と位置づけることもできる。ADPKDの責任遺伝子の一つ PKD1 を欠損したマウスを作成し、その分子異常を検討することによりADPKDに対する治療創薬の糸口を得ることを目的とする。

B. 研究方法

生殖工学の手法を用い、Pkd1 遺伝子欠損マウスを作成し、その表現型を観察。Microarray を用いた包括的遺伝子解析により発現遺伝子の変化を観察した。

C. 結果

キメラマウスの交配により得られた遺伝子ホモ欠損マウスは腎嚢胞の形成を認め、胎生致死であった。腎においては、嚢胞は成熟尿細管に発生し、それに伴い E-cadherin, PECAM-1 の細胞膜局在異常と蛋白量の低下が見られた。またチロシンリン酸化受容体に関与する分子である Gab1 と EGF レセプターの恒常的なチロシンリン酸化の亢進が生じていた。この結果から PKD1 は発生においては標的臓器において adherens junction の形成に関与し、またチロシンキナーゼ活性の調節をしていることが示唆された。Microarray により腎における包括的遺伝子解析を行ったところホモ欠損マウスでは caspase1711, IL-1b の発現が低下しており適切なアポトーシス装置が作動していないと思われた。また転写因子である Lbx の発現が低下していた。一方 DNA polymerase の転写

を調節する POLD1 の発現が増加しており細胞周期回転の亢進が嚢胞形成に関係すると思われた。PPAR γ の発現が胎生 12 日において、ノックアウトマウスで低下していた。PPAR γ アゴニストを経胎盤的に投与すると、分子異常を改善し、かつ嚢胞形成を抑制した。

D. 考察

PPAR γ アゴニストは現在 II 型糖尿病に対するインスリン感受性の改善目的で臨床使用されているが、加えて抗炎症作用、細胞増殖抑制、血管内皮機能改善効果があることが報告されている。PPAR γ アゴニストがヒトにおいても ADPKD での腎不全の進展、血管内皮機能異常の改善に効果的な可能性がある。

E. 結論

Pkd1 遺伝子欠損マウスは ADPKD モデルとして適切であり、PPAR γ 発現異常が関与している可能性がある。PPAR γ アゴニストは治療に有効である可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Muto S, Aiba A, Saito Y, Nakao K, Nakamura K, Tomita K, Kitamura T, Kurabayashi M, Nagai R, Higashihara E, Harris PC, Katsuki M, Horie S. Pioglitazone improves the phenotype

and molecular defects of a targeted *Pkd1* mutant. Hum Mol Genet. 11:1731-42, 2002.

2. 学会発表

1) 堀江重郎 多発性嚢胞腎の分子病理-ノックアウトマウスの解析から
ワークショップ 2 遺伝性嚢胞性腎疾患研究の進歩 第 45 回日本腎臓学会総会 2002 年

2) Pioglitazone Improves the Phenotype and Molecular Defects of a Targeted *Pkd1* Mutant. Satoru Muto, Yuichirou Saitou, Eiji Higashihara, Motoya Katsuki, Shigeo Horie. Annual meeting of American Society of Nephrology, 2002

H. 知的財産の出願・登録状況

該当無し

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
各個研究報告書

多発性嚢胞腎における嚢胞腎遺伝子産物ポリシスチン 1/2 の機能解析について

研究協力者 細谷龍男（東京慈恵会医科大学腎臓・高血圧内科教授）
共同研究者 花岡一成（神奈川県衛生看護専門学校付属病院内科医長）

研究要旨

常染色体多発性嚢胞腎はこれまでにPKD1遺伝子、PKD2遺伝子が発見されている。遺伝子産物ポリシスチンの機能解析を行ったところ正常ポリシスチン 1 と 2 が複合体を形成しポリシスチンチャンネルとして機能することが解明され、その後の嚢胞腎の病態生理研究に貢献する結果を残すことができた。

A. 研究目的

常染色体多発性嚢胞腎は両側腎臓に嚢胞が出現し、次第にその数が増加すると同時に個々の嚢胞の拡大が起こり、巨大な嚢胞腎を形成する。同時に腎機能障害が進行し、60 才までに約半数が透析・腎移植などの治療を必要とする慢性腎不全に陥る疾患である。連鎖解析によりこれまでに PKD1 遺伝子、PKD2 遺伝子が発見されているが、PKD 遺伝子産物ポリシスチンの機能や、嚢胞拡大の病態生理について詳細はわかっていない。我々はポリシスチンの機能解析を行ったので、ここに報告する。

B. 研究方法

PKD 遺伝子産物の機能解析

ヒト PKD1、2 遺伝子全長を発現ベクターに組み込んで Chinese hamster ovary 由来の培養細胞（CHO 細胞）に強制発現させ、以下の検討を行った。

- a. ポリシスチン蛋白発現の確認
- b. パッチクランプ法によるポリシスチンチャンネル活性の検出
- c. 蛍光免疫染色法によるポリシスチンチャンネルの細胞内局在
- d. 異常ポリシスチンの機能解析

C. 結果

a. ポリシスチン蛋白発現の確認
ヒト PKD1、2 遺伝子全長を発現ベクターに組み込んで Chinese hamster ovary 由来の培養細胞（CHO 細胞）に強制発現させ、蛋白の存在を確認したところ、ポリシスチン 1、2 は CHO 細胞内で全長蛋白として発現し、両者が結合していることが確認できた。

- b. パッチクランプ法によるポリシスチンチャンネル活性の検出
パッチクランプ法を用いて電気生理学的に機能解析を行ったところ、ポリシスチン 1 あるいはポリシスチン 2

を単独で発現させた細胞では新たな電流が生じないのに対して、ポリシスチン1と2の両方を同時に発現させた細胞ではカルシウムを含めた陽イオンを非選択的に透過する電流が観察された。このポリシスチン複合体（ポリシスチンチャンネル）による電流は、軽度外向き整流性のある時間依存性のない陽イオン電流で、一般に非選択的陽イオンチャンネルを阻害するといわれる lanthanum や niflumic acidにより抑制される。各陽イオンの透過性は $Ca^{2+} > Na^{+} = Cs^{+} > NMDG^{+}$ (N-methyl-D-glucamine) で、一価の陽イオンのほかカルシウムを透過するのは、ポリシスチン2と構造が非常に類似しているポリシスチンLチャンネルと同様である。

c. 蛍光免疫染色法によるポリシスチンチャンネルの細胞内局在

ポリシスチン2を強制発現すると小胞体 (ER) の膜上に留まると報告されていたため、狭焦点顕微鏡を使用してポリシスチン複合体の細胞内局在を調べた。ポリシスチン2を単独に発現させた細胞では細胞内小器官に存在が確認されたが、ポリシスチン1と2の両方を同時に発現させた細胞では細胞内小器官のみならず細胞膜にポリシスチン1と2が存在することが観察され、細胞膜上でポリシスチンチャンネルとして機能しうることが示唆された。

d. 異常ポリシスチンの機能解析

ADPKD患者で報告されているナンセンス変異遺伝子の PKD1-R4227X は4227番のアミノ酸の点変異によりストップコドンが早期に出現し、ポリシスチン1のC端にある coiled-coil ドメインが存在しない。この異常ポリシスチン1を正常ポリシスチン2と一緒に発現させてもポリシスチン複合体を形成せず、ポリシスチンチャンネルとしての電流を観察することはできない。異常ポリシスチン2の PKD2-R742X と正常ポリシスチン1を用いた場合も、同様の結果が得られる。PKD2-R742X はチャンネルポアー(イオンの通過する穴)が存在するがポリシスチン1との結合部位が存在せず複合体を形成しない変異体で、単独で細胞膜に存在することが確認されている。この細胞膜に存在するポリシスチン2の変異体が単独で存在しても、またポリシスチン1と同時に発現させてもチャンネル活性が確認できなかった。

D. 考察

ポリシスチン1には正常ポリシスチン2を細胞膜に輸送し、かつポリシスチンチャンネルが機能するためのレギュレーターとして機能していることが予想された。このイオンチャンネルはカルシウムイオンの細胞内流入に関与し、細胞内情報伝達系の調節に重要な役割を果たす可能性がある。

E. 結論

正常ポリシスチン1と2が存在し複

合体を形成することがポリシスチンチャンネルとして機能するために必要である。

F. 健康危険情報

本研究は in vitro 実験であり、嚢胞腎患者からの直接のサンプリングあるいは投薬などは行われていない。したがって患者への健康危険などの心配はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

Hanaoka K et al. *Nature* 408: 990-994.
2000

2. 学会発表

Hanaoka et al. *Annual Meeting of Am. Soc. Nephrol.* 2000

(Hanaoka et al. *J. Am. Soc. Nephrol.*

11. 2000)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
各個研究報告書

本邦における多発性嚢胞腎診療の実態に関する研究

研究協力者 香村 衡一
国立佐倉病院泌尿器科医長

研究要旨

多発性嚢胞腎は全国規模では31000人の罹患者が推定され約6000人の透析者がいるが、1病院では0ないし数名の少数になっていること、1病院内でも内科と泌尿器科とで統合された診療がなされていないことなどの実態が国立病院のアンケート調査で判明した。多発性嚢胞腎のような1病院では少数となってしまうが、全国規模では少なくない疾患では国立病院のような全国ネットワーク性を利用した診療体制作りが重要と考える。

A. 研究目的

患者会などで地方における嚢胞腎専門医の不在を訴える声がある。そこで、国立病院の全国ネットワーク性を利用して、日本における嚢胞腎医療の実態を探った。

患者を1人以上診療した病院は53病院で、10人以上診療した病院は4病院であった。53病院の主な回答担当科は泌尿器科25病院、内科15病院、小児科5病院、その他8病院であった。

B. 研究方法

全国の国立病院長宛に嚢胞腎担当科医へのアンケート調査を依頼した。1年間の嚢胞腎の患者数、何科が主科か、専門的な診療活動などの項目についてFAXでの返信を依頼した。

（倫理面への配慮）
個々の患者データは要求していない。

D. 考察

多発性嚢胞腎患者は、1病院あたりでは、少数になってしまい、さらに1病院の中でも泌尿器科と内科で個々に診療されていて、特に統合した診療が行われていないことが多かった。嚢胞腎は病態が多彩で、症状の重症度も個人でかなり異なる。また、発症は30-40代以降の者が多く、腎機能の低下は慢性の経過を取り、急激な変化は少ない。さらに遺伝性疾患も慢性腎不全も治らない病気としてのイメージが強い。これらのことが相まって、嚢胞腎を積極的に診る医師や病院がほ

C. 結果

全国215の国立病院の内127病院より回答を得た。最近1年間に嚢胞腎の

とどなかったのがこれまでの現状
と言える。

E. 結論

多発性嚢胞腎のような一病院では
少数となってしまうが、全国規模では
少なくない疾患では国立病院のよう
な全国ネットワーク性を利用した診
療体制作りが重要と考える。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

国立病院における常染色体優性多発
性嚢胞腎診療の実態についてのアン
ケート調査、医療 56、515-519、2002

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金 (特定疾患対策研究事業)
各個研究報告書

New option for ADPKD patients with enlarged kidney and liver

Yoshifumi Ubara, Tetuo Tagami, Naoki Sawa, Junichi Hoshino, Masafumi
Yokota, Hideyuki Katori, Fumi Takemoto, Shigeko Hara
Kidney Center, Toranomon Hospital

Summary: The kidneys of patients with autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) usually continue to increase in size even after patients begin dialysis, and mass effects may lead to severe complications. Thus far, renal manifestations of this disorder have been discussed only from the viewpoint of cyst formation or cystogenesis, are not from that of vascular abnormality.

Since kidneys in ADPKD patients are usually supplied by well-developed arteries, we attempted renal contraction therapy in ADPKD patients with renal transcatheter arterial embolization (TAE) using intravascular coils. Mainly peripheral branches of renal arteries encircling the cysts were embolized. Up to 2002 our treatment has been confirmed to be effective in 160 patients. Renal size continued to decrease to 53% of the pre-TAE after 1 year. Improvement of quality of life and nutritional status has been obtained by almost all patients.

We next tried TAE in 19 intractable patients with symptomatic polycystic liver. We tried to embolize only the hepatic segments replaced by cystic lesions in which the hepatic arteries were well-developed but the intrahepatic portal vein was obstructed. Seventeen patients have had a good clinical course. Based on our observation of ADPKD through treatment with TAE, we speculate that cyst growth in both kidney and liver progresses via the mechanism of "arteriogenesis" of large vessels as well as "angiogenesis" of small vessels.

A. Purpose: Patients with autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) have an important feature, that is, an increase in renal size is inversely proportional to deterioration of renal function, which the other renal disorders have not. Kidneys in ADPKD patients are usually supplied by well-developed arteries, and we developed renal cyst contraction therapy using renal transcatheter arterial embolization (TAE). Because this treatment has yielded good result for patients with large polycystic kidneys, it has been applied to enlarged polycystic liver with good effect. From the viewpoint of diagnostic imaging and treatment of ADPKD, we would like to reconsider the pathogenesis of this disorder.

B. Method

1. Patients

We treated renal and hepatic TAE in 166 patients using this method; 147 patients, with only renal TAE; 13 patients, with both renal and hepatic TAE; 6 patients, with only hepatic TAE. These patients included 80 males and 86 females, from 21 to 78 years of age (mean \pm SD: 58 \pm 8). Six of the 166 were from our institute; the other 160 were referred for this new treatment from 133 dialysis centers in 39 of the 47 prefectures of Japan. The breakdown of the 19 patients receiving hepatic TAE is as follows: 14 patients, dialyzed; 3 patients, with chronic renal failure before dialysis; and 2 patients, with normal renal function. All of the 160 patients undergoing renal TAE were on dialysis from 0 to 31 years (6 \pm 5).

2. Interventional procedures

Details of the interventional procedures of renal TAE will be discussed. We used Seldinger's technique with femoral arterial cannulation to perform renal angiography. From October 1996 to June 1999, we sought to obstruct large renal arterial branches located proximally in the first 12 patients, using stainless steel coils which were 0.035 inch in diameter, and 1, 2 or 3 cm in length. This method was effective in 9 patients. However, 3 of the 12 cases had suboptimal result. We performed 2nd angiography in the suboptimal cases. Many of renal arterial branches were recanalized, prompting us to repeat renal TAE. However, catheters would not advance into renal arteries, since the proximal renal arterial portion was incompletely obstructed by coils. Reconsidering these results, we made the following plan. Expecting greater effects and improved safety, we have tried platinum microcoils in patients since June 1999. These coils, thinner and longer than the steel coil, are used to obstruct peripheral branches. The coils are 0.018 inch in diameter and 4 to 10 cm in length. TAE was more effective with them; repeat procedure could be performed safely and easily in cases with recanalization. TAE was performed compactly as if many peripheral branches appeared to have been replaced by many microcoils. A mean of about 30 pieces of microcoils were used on both sides. In the future more effective embolizing materials may be developed.

C. Result

Renal size decreased to 70.2% of the previous value (after 3 months),

61.0% (after 6 months) and 54.1% (after 12 months). This effect was steady and significant ($P < 0.0001$). Abdominal circumference and standard body weight continued to decrease until 6 months, and then began to increase as patient appetite improved. Although this treatment was initially expected to produce renovascular hypertension (RVH) due to obstruction of renal arteries, RVH did not develop. Serum renin concentration remained low throughout this treatment. If standard body weight remained the same as before TAE, blood pressure became high. When standard body weight was lowered to an appropriate degree, normal blood pressure was restored.

Anemia would be expected to worsen, since this therapy is aimed at destruction of the kidney. However, hematocrit values were significantly higher after TAE. Administration of genetic recombinant erythropoietin derivatives significantly decreased after TAE therapy. We studied why anemia improved. Endogenous erythropoietin value remained unchanged. Almost all patients experienced relief of symptoms caused by compression of the digestive tract. Appetite became good. Insulin-like growth factor-I (IGF-1), as an index of nutritional status, increased significantly. In serum albumin and total cholesterol levels, significant increases were observed. Based on the treatment of ADPKD, the cause of anemia in dialysis patients might be related to nutritional status.

We must now consider the main complications of Renal TAE. Severe flank pain occurred one to two hour after the initiation of the procedure. The pain peaked on the

following day and subsided by the fifth day. As treatment, an epidural catheter was inserted at the 10th or 11th thoracic spine. From the start of TAE, local anesthesia was performed continuously. If needed in case of severe pain, NSAIDs and/or pentazocine were then added. Fever occurred after the start of TAE, and persisted for about 8 days. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) were administered to control the fever. Antibiotics were used until the 5th days after TAE.

In cases with cyst infection, we believe renal TAE is still possible. It is a very well-known principle of bacteriology that, if culture medium is bad, bacteria do not grow. The same principle can be applied to cyst infection. Since the most significant culture medium for bacteria in humans is the blood, unless blood is supplied to bacteria after this therapy, they will not survive. As a matter of fact, none of the patients developed new renal cyst infections, and there were no relapses in patients with a history of renal infection.

Thus far, we have tried hepatic TAE in 19 intractable patients (Male: 3 patients, Female: 16 patients, Dialyzed: 14 patients, Non-dialyzed: 5 patients) with symptomatic polycystic liver. CT demonstrated marked hepatomegaly. The liver of these cases had been replaced by multiple cysts, and intact parenchyma without cysts was scarce. Multiple cysts were concentrated in some specific segments. We tried to embolize only the hepatic segments formed by cystic lesions, in which the hepatic arteries were well-developed but the intrahepatic portal vein was obstructed. The intact hepatic parenchyma with patent portal veins was not subjective to embolization.

Seventeen out of 19 patients have had a good clinical course. We tried TAE for 2 cases with severe intractable multi-vessel heart disease, but did not obtain good result. One patient died of heart disease 24 hours after TAE, and the other case did of a relapse of myocardial infarction 2 months after TAE.

D. Discussion

Why is TAE effective in shrinking enlarged kidneys of ADPKD patients? We offer the following speculation concerning the reason for this. From the angiographical viewpoint, almost all renal arteries have become large, elongated and well-developed in proportion to kidney size, with peripheral branches encircling the cysts. Doppler-ultrasonographic study showed that cyst walls not only contain cyst fluid, but also have well-developed vascularity. Abundant blood flow is observed along the cyst wall. Histologic examination showed the remaining interstitium of the cyst wall to be comprised only of fibrous tissue, and to contain cyst fluid. Most of the glomeruli and tubules had disappeared and were invisible. The cyst wall appears to be a container of cyst fluid made of fibrous tissue. However, close examination of the cyst wall showed it to be well-vascularized, with small arteries and veins gathering together closely in small areas. The cyst wall is supplied by abundant vessels. Abundant vessels exist in the narrow space between the neighboring cysts. The cyst is surrounded and may be fed by renal arteries. Based on this morphology, a close relationship was speculated to exist between cysts and renal vessels. What do these well-developed arteries feed?

Since the kidney is comprised mostly only of two components of cysts and well-developed blood vessels, the blood flow could be said to supply multiple renal cysts. Procedures designed to obstruct these renal arteries may therefore lead to shrinkage of renal cysts .

Our treatment by renal arterial embolization has led to decrease of renal size as well as cyst size in about 160 patients. Improvement of both quality of life and nutritional status has been obtained in almost all patients. This result implies that a close relationship exists between cyst growth and vessels, and that vessels cause cyst growth. Progression of renal arteries observed on angiography may be expressed by the term "angiogenesis". This was supported by only one report, that of Bello-Reuss et al. The authors reported an extensive capillary network in the cyst wall of ADPKD kidneys and morphological evidence of vascular malformations. Immunohistochemical analysis demonstrated (1) vascular endothelial growth factor (VEGF) in cyst cells, (2) VEGF receptor-2, known as kinase insert domain-containing receptor (KDR), in endothelial cells of small vessels surrounding cysts, and (3) coexpression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and integrin alpha-v-beta3 in the vessels around the cysts. On western blot analysis expression of VEGF₁₆₅ was found in cyst cell in culture. They concluded that angiogenesis in ADPKD may be necessary for cyst cell growth and increased vascular permeability facilitating fluid secretion into the cysts via VEGF. In this paper, they added the possibility that neovascularization would result in formation of aneurysms. In our angiographic

studies, however, only three of about 160 patients had arterio-venous malformation. We experienced no case with peripheral renal arterial aneurysm. Although angiogenesis plays an important role in cyst-growth, aneurysm formation appears to involve other factors. In general, angiogenesis by VEGF secretion is induced via hypoxia. This phenomenon has been demonstrated in ischemic coronary artery, cancer and diabetic proliferative retinopathy. The angiogenesis observed in these disorders was limited to capillaries to very small arteries. However, the growth of renal arteries of patients with ADPKD reaches the length of long arteries of about 10 to 20 cm. This vascular abnormality might better be called "arteriogenesis" than "angiogenesis". In general, the arteries of all organs in humans become mature by about 20 years of age, and these arteries will no longer increase in size. However, importantly, renal arteries of ADPKD begin to grow after about 20 years of age. If angiogenesis via VEGF plays an important role in cyst growth of ADPKD, in which region does this hypoxia exist in the kidney, and what causes it? These questions must be answered in the future.

Based on our observation of ADPKD through treatment by TAE, we would like to offer a speculation concerning the mechanism of cyst growth. As renal failure progresses, renal volume will increase with growth of renal arteries. The role of the renal arteries appears to shift from support of renal function such as the glomerular system to supplying fluid to multiple renal cysts. Perhaps, renal arteries peculiar to cysts of ADPKD patients develop, and may be called cyst-supporting arteries.

Renal arterial branches consist mainly of glomerulus- and tubule-supporting original arteries and cyst-supporting arteries. In the early stage, glomerulus- and tubule-supporting arteries are dominant and cyst-supporting arteries are very small. However, as renal failure progresses, cyst-supporting arteries grow by the mechanism of angio-arteriogenesis and glomerulus- and tubule-supporting arteries die out, the kidneys being replaced and occupied by multiple cysts, resulting in nephromegaly. Therefore, the purpose of treatment is to injure cyst-supporting arteries selectively, resulting in cyst disappearance. These 2 kinds of arteries need to be discriminated in the future. We would like to talk about future perspectives on the treatment of ADPKD. What treatment can selectively injure cyst-supporting arteries? If the patient is on dialysis, TAE will be effective. However, since this therapy will ultimately destroy renal function, drugs that suppress the mechanism of angio-arteriogenesis will have to be developed as a new option for preservation of renal function. Thalidomide may become an option for treatment.

The mechanism of growth of hepatic cysts remains unknown. However, since most patients with enlarged polycystic liver are women and have had multiple pregnancies, estrogen has been suspected to contribute to cyst growth. Also in our study, 16 of 19 patients who underwent hepatic TAE were female and had a mean age of 55 ± 5 (42 to 61) years with 2 ± 1 (1 to 3) pregnancies. We therefore propose a difference in the mechanism of cyst growth between liver and kidney based on our

treatment experience and imaging diagnosis of 166 ADPKD patients. In almost all kidneys, cysts were distributed equally throughout the kidney, and only small size of cysts in the early stage continued to expand diffusely in all regions as renal failure progressed. The kidneys are ultimately occupied by multiple cysts, resulting in nephromegaly. In the liver, on the other hand, many cysts of patients with hepatomegaly localize to only some specific segments, and continue to expand. Hepatic segments occupied only by cysts become enlarged and rigid. Perhaps such segments compress the portal vein of neighboring hepatic segment. Because the hepatic parenchyma is fed mainly by the portal vein, after the portal vein is compressed by cystic hepatic segments, hepatic parenchyma will disappear. Hepatic artery are robust and invade affected vulnerable hepatic segments, and these segments will become cystic. Hepatic arteries may grow by mechanism of angio-arteriogenesis. Repetition of this establishes polycystic liver with severe hepatomegaly.

E. Conclusion

To reduce enlarged kidneys and liver, five conventional methods have been reported: (1) needle aspiration of the cyst, followed by injection of sclerosing agents, (2) surgical fenestration, (3) laparoscopic fenestration, (4) laparoscopic nephrectomy, and (5) surgical nephrectomy and hepatectomy. These may be called external treatments, since they are performed via a transabdominal approach. These methods are not usually safe. A safer and more effective therapy must be developed. We have developed such a new

treatment; we call our therapy internal treatment, since the arteries feeding the cysts are the target and internists including radiologist can participate in the treatment.

F. Information to risk of health
none

G. Research Publication

1) Ubara Y et al: Renal contraction therapy for enlarged polycystic kidneys by transcatheter arterial embolization in hemodialysis patients: Am J Kidney Dis 39; 571-579, 2002

2) Ubara Y: Editorial, Renal Reduction Therapy For Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Internal Medicine 41(6), 415-416, 2002

3) Ubara Y et al: Transcatheter renal arterial embolization therapy on a patient with polycystic kidney disease on hemodialysis. Am J Kidney Dis 34: 926-931, 1999

Presentation at the annual meeting

1) Yoshifumi Ubara. 35. ASN 35th meeting, 11/3/2002, Philadelphia Renal contraction therapy for enlarged polycystic kidneys by transcatheter arterial embolization.

2) Ubara Y. Invited special lecture at PKD foundation. 11/7/2002 New treatment for ADPKD,

3) Ubara Y. Invited special lecture at Kansas University. (Dr Grantham) 11/8/2002 New treatment for ADPKD,

4) Ubara Y. Invited special lecture at Mayo Clinic (Dr Torres) 11/11/2002 New treatment for ADPKD.

病 理 総 括 分 科 会
分担・各個研究報告

病理総括研究

分担研究者 重松 秀一
信州大学医学部病理学教授

研究要旨

α -smooth muscle actin (α -SMA) 陽性化を示すメサンギウム細胞の形質転換を伴った増生が種々の急性糸球体障害で観察されているが、この現象が糸球体硬化の前駆病変なのか、糸球体構造の再生にむけて何らかの可能性を秘めているのか非常に興味深いことである。 α -SMA 陽性細胞は急性炎症巣に出現するため、炎症の急性の活動性を示す指標ではあるが、かならずしも病態の進行を予測するものではない。これまでの実験動物を用いた解析では、炎症に伴って表れるメサンギウム細胞の α -SMA 陽性化形質転換の後には2つの進展方向があり、1つは係蹄血管構造の回復再生でありもう1つは炎症後の硬化であることが立証されつつあるが、今後さらにこれらのメカニズムを解明するために検討が必要である。

A. 研究目的

炎症後の糸球体硬化は最終的に糸球体濾過機能の喪失に至る慢性の病的変化である。メサンギウム基質の過剰産生ないし凝集がこの現象の主たる原因と考えられている。一方メサンギウム細胞の形質転換を伴った増生が種々の急性糸球体障害で観察されている。この現象が糸球体硬化の前駆病変なのか、糸球体構造の再生にむけて何らかの可能性を秘めているのか解明することを目的とする。

B. 研究方法

α -SMA 陽性の間葉系細胞の増殖は胎児期の糸球体形成の場で観察されるが、生下時には α -SMA は動脈、細動脈の中膜の平滑筋細胞に限られ、糸球体の内部には認められない。しかし α -SMA 陽性化を示

すメサンギウム細胞の形質転換は種々の糸球体病変で観察されている。同様の形質転換は腎臓間質にも見出されている。このメサンギウム細胞の形質転換は同時に transforming growth factor ($TGF-\beta$) や platelet-derived growth factor (PDGF) を含む種々のサイトカインの過剰産生をとともなうことが知られている。そのため α -SMA の表出は糸球体疾患の進行を示唆するものと考えられる。

(1)そこでわれわれは種々の組織障害のある IgA 腎症についてかねて発表していた組織学的障害度と進行度（急性障害と慢性障害）を用いて α -SMA 表出との関係を検索した。

(2)次に α -SMA 陽性細胞がこの糸球体血管再構築という再生へのプロセスと硬化という糸球体機能喪失へのプロセスとの

間でどのような役割をになっているのか解明するために、我々は Thy-1 腎炎での再生現象について特に係蹄血管構造の再構築に焦点をあてて検討を加えた。

C. 研究結果

(1) IgA 腎症について組織障害度と進行度を用いて α -SMA 表出との関係を検索した結果、 α -SMA は糸球体に分節性あるいは全節性に、管内、管外細胞増生や壊死性破壊性変化と相関して表出が見られたが、硬化巣には見られなかった。組織学的に障害活性は急性炎症と再生現象として表される。メサンギウム基質と糸球体基底膜はともに重要な細胞外基質であり、その障害はメサンギウム浮腫、網状化、メサンギウム融解あるいは基底膜断裂と表現される。これらの障害に際してしばしばフィブリン様物質の管外流出が見られるので古くから「フィブリノイド壊死」といわれてきた。そしてこの破壊性変化に続いて糸球体固有細胞の細胞増生性変化がおこる。炎症細胞の管内集積、管外流出は糸球体固有細胞の管内増殖、管外性半月体性増殖を修飾するものである。 α -SMA 陽性細胞はまさにこの急性炎症巣に出現する。即ち α -SMA の表出はその場での炎症の急性の活動性を示す指標ではあるが、かならずしも病態の進行を予測するものではないという結論である。

(2) 抗 Thy-1 抗体をウイスターラットに注射後第 1 日には係蹄構造は未だ保持されており単球・マクロファージの集積が目立った。第 3 日にはメサンギウム融解が顕著に表れ、 α -SMA 陽性細胞が嚢胞状になった基質融解部に認められ、単球・マ

クロファージは減少した。この時期にはラット内皮細胞抗原 (RECA) を表出する細胞はメサンギウム融解部には認められなかった。1 週間後には α -SMA 陽性細胞は顕著な増殖を示し 1, 3 型コラーゲンの増生を伴っていた。この時期には RECA 陽性の内皮細胞がこれらの増生巣に同時発現していた。2 週間後には嚢胞状を呈していた部には α -SMA 陽性細胞は減少し細胞外基質が増加し、一方内皮細胞の増加と血管構造物の増加が顕著であった。4 週には正常の係蹄構造の再生と一方で α -SMA 陽性細胞の減少、1, 3 型コラーゲンの減少消失が見られ、12 週には大部分の糸球体が正常構造を示すに至っていた。虚脱した糸球体係蹄が層状分節性に認められた。この実験は α -SMA 陽性細胞が初期の血管再構築のための足場作りをしている可能性を強く示唆するものであった。

ひき続いてわれわれは血管再構築に大切な役割を担っている α -SMA 細胞の増生抑制が血管再構築にどんな影響を与え、糸球体硬化と何らかの関連を示すかどうかの検討を行った。抗 Thy-1 抗体をウイスターラットに 1 週間に一回、4 週間にわたって反復注射した。最終注射 7 日後には 30% の糸球体はボウマン嚢との癒着、半月体の形成を示していた。又マクロファージの集積は遷延持続し α -SMA 陽性細胞の消退現象に遷延化が見られた。血管再構築現象は認められたが、RECA 陽性細胞の増殖は乏しかった。12 週間後には 50% の糸球体に分節性硬化巣が認められた。これらの成績は反復する抗 Thy-1 抗体の投与で急性炎症性変化が遷延し、血管再構築を抑制し血管虚脱型の糸球体硬化を