

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
各個研究報告書

「IgA 腎症組織病変の臨床予後予測因子としての評価と  
そのステロイド治療による修飾に関する統計学的解析」

研究協力者 城 謙輔、鈴木理志、柏原英彦\*  
国立千葉東病院臨床研究部、\*聖隷佐倉市民病院

**研究要旨**

腎生検時の活動性あるいは慢性といわれる組織病変の各要素が、IgA 腎症の自然史においてどのような臨床予後予測因子となるか。そして、ステロイド治療(ST)がその臨床予後予測因子にどのように介在するかを、単変量解析を用いて後方視的に解析した。さらに、多変量解析を用いて有効な臨床予後予測式を作製し、ST 適応の判断に供することを目的とした。単変量解析において、尿蛋白増悪を予測する組織病変を non-ST 群と ST 群で比較したところ、活動性管内病変 AGi、細胞性半月体 AGe、間質内炎症細胞浸潤 Ai、線維性半月体 CGe が ST に反応する病変として選ばれた。腎機能悪化を予測する病変では、同様な手法で細胞性半月体 AGe と間質内炎症細胞浸潤 Ai が ST に反応する病変として選ばれた。さらに、多変量解析による各組織病変の回帰係数を利用して、蛋白尿増悪と腎機能悪化に関するそれぞれの予後予測方程式を作製した。個々の IgA 腎症患者については、non-ST と ST の双方の場合の予後予測値を比較して、ST 適用の判断材料にすることができた。このように IgA 腎症の組織病変を各要素に分けて定量化することが、臨床予後を予測し、ST 適応の判断に有効であった。

**A. 研究目的**

腎生検時の活動性あるいは慢性といわれる組織病変の各要素が、IgA 腎症の自然史においてどのような臨床予後予測因子となるか。そして、ステロイド治療 (ST) がその臨床予後予測因子にどのように介在するかを、単変量解析を用いて後方視的に解析する。さらに、多変量解析を用いて

有効な臨床予後予測式を作製し、ST 適応の判断に供することを目的とした。

**B. 研究方法**

腎生検により糸球体数 8 ヶ以上、生検後 2 年以上経過観察しえた IgA 腎症内科症例 275 例を対象とした。疾患活動性を示す形態的要素として、

メサンギウム細胞の増殖 (AGm)、活動性管内病変 (AGi)、管外性の細胞性半月体(AGe), そして間質内炎症細胞浸潤の程度(Ai)を、疾患の慢性病変を示す形態的要素として、球状糸球体硬化(CGs), メサンギウム基質の増加(CGi)、線維性半月体(CGe), 間質中の線維性拡大の程度(Ci)を定量的にスコア化した。ST の定義として 1 日 30mg 以上を 4 週間以上使用した症例を ST 有(ST), それ以外を ST 無(non-ST) とした。臨床予後の指標として、蛋白尿の改善・増悪については、ST 開始 12 ヶ月後、1 日蛋白尿 1g/day 未満あるいは 50%以上軽減した症例を有効、それ以外を無効とした。腎機能予後は、血清クレアチニン値(Cr) 2mg/dl を endpoint として、観察期間中それに達するまでの月数で表示し、達しない症例を腎機能維持群とした。蛋白尿の増悪・改善には Logistic 解析、腎機能維持・増悪には Cox 解析を用いた。

(倫理面への配慮) 患者情報および病理診断のデータベースの蓄積と利用に関しては、疫学的手法を用いた研究等の適正な推進の在り方に関する専門委員会の「疫学的手法を用いた研究等に関する倫理指針」に準拠して倫理委員会の承諾を得つつ、腎生検に際して、十分な説明のもとに患者から書面にて同意書を取る。また、同意書の提出後であっても、同意書を撤回することができる様に配慮した。

## C. 結果

上記の組織病変 8 要素についての単変量解析において、尿蛋白増悪を予測する組織病変を non-ST 群と ST 群で比較し、AGi、AGe、Ai、CGe が ST に反応する病変として選ばれた。腎機能悪化を予測する病変では、同様な手法で AGe と Ai が ST に反応する病変として選ばれた。さらに、多変量解析による各組織病変の回帰係数を利用して、蛋白尿増悪と腎機能悪化に関するそれぞれの予後予測方程式を作製した。尿蛋白増悪に関しては、 $\text{Logit } P(\text{non-ST}) = f\text{AGe}(x) + f\text{Ai}(x) + f\text{CGi}(x) + f\text{CGe}(x)$ ,  $\text{logit } P(\text{ST}) = f\text{AGi}(x) + f\text{CGi}(x) + f\text{CGe}(x)$ , そして腎機能増悪に関しては、 $\text{logit } P(\text{non-ST}) = f\text{AGe}(x) + f\text{Ai}(x) + f\text{CGs}(x) + f\text{CGi}(x)$ ,  $\text{logit } P(\text{ST}) = f\text{CGs}(x)$ であった。個々の IgA 腎症患者については、non-ST と ST の双方の場合の予後予測値を比較して、ST 適用の判断材料にすることができた。

## D. 考察

IgA 腎症の各組織病変の臨床予後への影響に関してはこれまで実証的なデータがなかったため、経験上、activity index(AI)と思われる AGm, AGi, AGe, Ai, そして、chronicity index と思われる CGs, CGi, CGe, Ci の各スコアの総計をそれぞれ AI スコア、CI スコアとして治療選択の指標としていた。しかし、今回の研究では、activity index (AI) と chronicity index (CI) を構成する各病変の臨床予後 (蛋

白尿、腎機能) に対する影響について予測式を算出し、ステロイド非使用群と使用群を比較したところ、臨床予後を予測する最も有効な予測式は、単なる AI と CI という総和の比較とは異なり、各病変間で一様でないことがわかった。そのため、各症例の腎生検から各病変をスコア化し、それを ST (ステロイド使用) の場合と non ST (ステロイドを使用しない) 場合の双方の予測式に代入して予測値を比較し、ステロイド適応の判断にすることが最も有効と思われた。

#### E. 結論

IgA 腎症の組織病変を各要素に分けて定量化することが、臨床予後を予測し、ST 適応の判断に有効であった。IgA 腎症分科会では、平成 11 年度で 4 年後の腎機能予後が明らかな 2,256 症例が平成 15 年で 8 年の予後調査となり、その資料から、大規模臨床研究を通じてより信頼性のある予測式を作成すべく計画している。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Hagiwara M, Suzuki S, Joh K.

The effect of continuance of proteinuria on the decline of renal function in adult IgA nephropathy: A middle term study on 625 patients. *Nephrology* 2002; 7 (Sppl.) A104-105

2. Joh K., Yamaguchi Y, Sakamoto K, Arita S, Iwashita C, Yamada K,

Kashiwabara H

Immunohistochemical analysis of tubulointerstitial changes of chronic allograft nephropathy

*Transplant Proc* 35, 2003 : 213-218.

3. Joh K., Nakasato T, Suzuki S, Hamaguchi K. Histological lesions as predictors for the effectiveness of steroid therapy in adult IgA nephropathy: Uni- and multivariate analysis. *Nephrology* 2003, 8 (Sppl.) : A107-110

4. Sakai K, Muramatsu M, Ogiwara H, Kawamura T, Arai K, Aikawa A, Ohara T, Mizuiri S; Joh K., Naito I, Hasegawa A.

Living related kidney transplantation in a patient with autosomal-recessive Alport syndrome. *Clin Transpl* 2003;17:4-8.

5. Kurosaka D, Yoshida K, Yasuda J, Yokoyama T, Kingetsu I, Yamaguchi N, Joh K., Matsushima M, Saito S, Yamada A.

Inhibition of arthritis by systemic administration of endostatin in passive murine collagen induced arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:677-679.

6. Fujimoto M, Maezawa Y, Yokote K, Joh K., Kobayashi K, Kawamura H, Nishimura M, Roberts AB, Saito Y, Moro Mice lacking Smad3 are protected against streptozotocin-induced diabetic glomerulopathy. *Biochem Biophysiol Res Com* 2003: 305:1002-1007.

7. Nishimura M, Terawaki H, Hoshiyama Y, Joh K., Hamaguchi K, Yamada K.

Renal ultrasonography is useful for evaluating diabetic renal failure.

Clin Nephrol 2003; 59:174-179.

8. Shiihara T, Kato M, Kimura T, Matsunaga A, Joh K, Hayasaka K:

Microcephaly, cerebellar atrophy and focal segmental glomerulosclerosis in two brothers: A possible mild form of Galloway-Movat syndrome. J Child Neurol 2003; 18:147-149.

9. Suzuki S, Joh K.

Applicability of steroid therapy for 275 adult IgA nephropathy patients using a histological scoring system and degree of proteinuria.

Clin Exp Nephrol. 2004 in press,

## 2. 学会発表

1. Joh K, Nakasato T, Suzuki S, Hamaguchi, K.

Histological lesions as predictors for effectiveness of steroid therapy in IgA nephropathy; Uni-and multivariate analysis on 275 adult patients. J Am Soc Nephrol, 14:149A, 2003. 36st Annual Meeting for American Society of Nephrology. San Diego, USA. 2003年10月

2. Higurashi M, Nishimura M, Yagui K, Hashimoto N, Muraguchi M, Ohya Y, Joh K, Yamada K. Involvement of CXC chemokines in the development of diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol 14:401A, 2003.

36st Annual Meeting for American Society of Nephrology. San Diego, USA. 2003年10月

「尿中脂肪酸結合蛋白の臨床的意義の検討」

研究協力者 木村 健二郎

聖マリアンナ医科大学医学部医学科腎臓高血圧内科教授

研究要旨

尿中肝臓型脂肪酸結合蛋白（L-FABP）は、IgA腎症を含む慢性腎疾患において疾患のモニタリングに有用な新しいマーカーになりうる。

A. 研究目的

慢性腎疾患を対象に、尿中 L-FABP の臨床的意義を、多施設臨床性能試験により明らかにする。

B. 研究方法

対象・方法・評価項目・観察項目等について詳細に記載してください

対象：年齢が20-80歳のIgA腎症(n=10)を含む一次性慢性腎疾患患者(n=48)。

腎機能：血清クレアチニンが正常上限～正常上限x2.5。

方法：1. Cross section analysis-尿中 L-FABP と他のパラメーターとの関係を Spearman's rank correlation で検定。

2. Analysis 1：腎疾患の進行度と関連のあるパラメーターの検索—腎疾患の進行度は、クレアチニンクリアランス(Ccr)の時間経過における傾きと定義した。Spearman's rank correlation で検定。

3. Analysis 2：患者を腎疾患進行度が-0.1 未満を進行群、-0.1 以上を日進行群の2群にわけ、観察開始時のパラ

メーターを Mann-Whitney U test で比較検定。

4. 尿中 L-FABP、尿蛋白、尿a1-マイクログロブリン(a1-MG)のモニタリングカットオフ値を ROC 曲線により算出。腎疾患の進行予測に対する感度・特異度を測定。

5. Analysis 3：患者を観察開始時の尿中 L-FABP、尿蛋白が、モニタリングカットオフ値より高値の群および低値の群にわけ、クレアチニンクリアランスの推移を観察。

6. 腎疾患の進行度と尿中 L-FABP および尿蛋白の変動度を Spearman's rank correlation で検定。

（倫理面への配慮）

対象としたすべての患者からインフォームドコンセントを書面により得ている。

C. 結果

1. 尿中 L-FABP は、尿蛋白 ( $r=0.69$ )、尿a1-MG ( $r=0.95$ )、クレアチニンクリ

アランス ( $r=-0.55$ ) と強い相関を認めた。尿 NAG ( $r=0.39$ )とは弱い相関を認めた。

2. 腎疾患進行度は、尿蛋白( $r=-0.66$ )と強い相関を認め、尿中 L-FABP( $r=-0.39$ )、尿a1-MG ( $r=-0.36$ )と弱い相関を認めた。

3. 観察開始時の尿中 L-FABP は、腎疾患進行群(107 mg/g.cr.;n=32)では、非進行群(53 mg/g.cr.;n=16)に比べ有意に高値であった( $p<0.01$ )。

4. モニタリングカットオフ値

尿中 L-FABP 17.4mg/g.cr.

尿蛋白 1.0 g/g.cr.

尿a1-MG 11.4mg/g.cr.

腎疾患の進行予測に対する感度は、尿中 L-FABP が 93.8%ともっとも高値であった。特異度は、尿蛋白が 93.8%ともっとも高値であった。

5. 観察開始時の尿中 L-FABP および尿蛋白がモニタリングカットオフより高値の群は、低値の群にくらべ有意に腎疾患が進行した。腎疾患の進行にともない、尿中 L-FABP は上昇したが、尿蛋白に変動は、認めなかった。

6. 腎疾患の進行度と尿中 L-FABP の変動度( $r=-0.33$ )は弱い相関を認めたが、尿蛋白の変動度( $r=-0.15$ )とは相関を認めなかった。

#### D. 考察

ヒトの腎近位尿細管には、L-FABP が発現している。私たちは、基礎実験により、この L-FABP は、近位尿細管にかかるストレスの程度に応じ

て発現が亢進し、尿中への排泄が亢進する事を明らかにした。また、preliminary な臨床研究で、尿中 L-FABP が、腎疾患の進行を予測する有用な臨床マーカーである事を示した。そこで、多施設臨床性能試験を行い、尿中 L-FABP の臨床的意義を検討した。その結果、尿中 L-FABP は、腎疾患の進行にともない上昇し、また既存のマーカーにくらべ感度高く腎疾患の進行する患者を判別できる事が見出された。尿中 L-FABP は、疾患の進行を予測し、経過をモニタリングできる有効な臨床指標であると考えられる。

#### E. 結論

尿中 L-FABP は、IgA 腎症を含む慢性腎疾患をモニタリングする有用な指標である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 知的所有権の出願・登録状況

なし

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

・ Kamijo A, Kimura K, Sugaya T, Yamanouchi M, Hikawa A, Hirata Y, Goto A, Omata M: Urinary fatty acid binding protein as a new clinical marker for the progression of chronic renal disease. J Lab Clin Medicine, 2004, 143, 23-30

・上條敦子、木村健二郎：尿細管間質障害の治療—脂肪酸代謝の改善、腎と透析、2003, 55, 509-511

・上條敦子、菅谷健、樋川明久、木村健二郎：尿中肝臓型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)の臨床的意義、臨床病理、2003, 51, 219-224

・上條敦子、菅谷健、樋川明久、木村健二郎：尿中肝臓型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)の臨床的意義、Lab. Clin. Pract.、2003, 21, 12-15

・上條敦子、菅谷健、樋川明久、木村健二郎：蛋白負荷モデルにおける脂肪酸結合蛋白(L-FABP)の役割、The therapeutic Research, 2003, 24, 1270-1272

・上條敦子、木村健二郎：尿中肝臓型脂肪酸結合蛋白の腎機能評価としての有用性、Medical Technology, 2003,31, 704

## 2. 学会発表

・上條敦子、木村健二郎、平田恭信、石光俊彦、沼部敦司、高木正雄、早川宏、田部井史子、杉本徳一郎、三瀬直文、菅谷健、山之内昌也、樋川明久、慢性腎疾患における尿中肝臓型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)の臨床的意義—多施設臨床性能試験の検討、第46回日本腎臓学会、東京、2003年5月

・上條敦子、木村健二郎、平田恭信、石光俊彦、沼部敦司、\_木正雄、早川宏、田部井史子、杉本徳一郎、三瀬直文、菅谷健、山之内昌也、樋川明久、慢性腎疾患における尿中L-FABPの臨床的意義—多施設臨床性能試験の検討、第17回日本臨床内科医

学会、横浜、2003年9月

・Kamijo A, Sugaya T, Yamanouchi M, Hikawa A, Hirata Y, Ishimitsu T, Numabe A, Takagi M, Hayakawa H, Tabei F, Sugimoto T, Mise N, Kimura K: Clinical evaluation of urinary excretion of fatty acid binding protein as a marker for monitoring chronic glomerular disease -A multi-center trial, 第36回アメリカ腎臓学会、San Diego, USA, 2003年11月

・上條敦子、木村健二郎、平田恭信、石光俊彦、沼部敦司、\_木正雄、早川宏、田部井史子、杉本徳一郎、三瀬直文、菅谷健、山之内昌也、樋川明久、慢性腎疾患における尿中L-FABPの臨床的意義—多施設臨床性能試験の検討、第16回腎と脂質研究会、広島、2004年3月予定

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
各個研究報告書

「腎炎増悪因子の検討」

研究協力者 柴田 孝則  
昭和大学医学部腎臓内科助教授

研究要旨

極めて軽度の馬杉腎炎を惹起する量のラビット抗ラット糸球体基底膜抗血清を、complete adjuvant (CA)を前処置したBrown Norwayラットに投与したところ、heterologous phaseにおいて、有意な蛋白尿と著しい半月体形成を伴う馬杉腎炎を誘導した。糸球体では顕著なマクロファージの浸潤を認めたが、好中球の浸潤は軽度で、T細胞はほとんど見られなかった。CAはマクロファージを活性化することが知られており、それにより馬杉腎炎が増悪したことが示唆される。

A. 研究目的

慢性糸球体腎炎の患者においては急性上気道炎などの感染症がしばしば増悪因子となるが、これには感染によるマクロファージの活性化が関与している可能性が考えられる。本研究においては、complete adjuvant (CA) 単独を前処置したラットに抗糸球体基底膜抗体腎炎を誘導し、その臨床経過と腎組織像を検討することで腎炎に関わるマクロファージの役割を明らかにしようと試みた。

B. 研究方法

CAとPBSのエマルジョンを14日前に皮内に注射したBrown Norway (BN) ラットと無処置のBN ラットにday 0にラビット抗ラット糸球体基底膜抗血

清 (nephrotoxic serum: NTS) を0.02ml 静注し馬杉腎炎を惹起させ、day 4まで経時的に蛋白尿と腎の組織病変を免疫病理学的に検討した。

(倫理面への配慮)  
昭和大学動物実験委員会の承認を得て実験を行った。

C. 結果

CA 前処置馬杉腎炎群では無処置馬杉腎炎群に比し、蛋白尿、糸球体のフィブリン沈着は4日目まで顕著に増加した。病理組織学的には、無処置馬杉腎炎群ではday4でわずかに認められた半月体形成糸球体が、CA 前処置馬杉腎炎群ではday2から出現し、day4で著しく増加した。糸球体への細胞浸潤もCA 前処置馬杉腎炎群で顕

著に増加し、浸潤細胞の検討では、ED-1 陽性細胞が主体で、それらは IL-1  $\beta$  の発現を認めた。糸球体における MCP-1 の発現は 3h で明らかとなり day4 まで増加した。経過をとおして、好中球の浸潤はマクロファージに比し極めて軽度であった。なお、CA を前処置した BN ラットに、NTS の代わりに正常ラビット血清を投与した非馬杉腎炎群では有意な蛋白尿は認めず、病理組織学的にも何ら変化を認めなかった。

#### D. 考察

今回の我々の実験モデルでは、浸潤細胞ではマクロファージが主体であること、T リンパ球の浸潤をほとんど認めないことから、おそらく CA により活性化されたマクロファージが重要な役割を演じていると考えられ、それにより腎炎が増悪したことが示唆される。今後、さらなる浸潤細胞の解析、接着分子やケモカインの意義などについて検討を加えてその増悪の機序を明らかにしたい。本モデルは、感染を契機とした腎炎の増悪の機序を解析する上で有用なモデルとなると思われる。

#### E. 結論

BN ラットに CA 単独を前処置した後少量の NTS を投与したところ、著しい半月体形成性病変を伴う馬杉腎炎を誘導することができ、その発症にマクロファージが強く関与していることが示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 知的所有権の出願・登録状況

なし

#### H. 研究発表及び学会発表

向井一光、柴田孝則 他. 第 46 回日本腎臓学会学術総会（東京、2003. 5）

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
各個研究報告書

「原発性 FSGS 患者血漿のポドサイト系球体基底膜接着に及ぼす影響  
—とくに integrin - linked kinase(ILK)の役割—」

研究協力者 服部 元史

東京女子医科大学腎臓病総合医療センター腎臓小児科助教授

研究要旨

原発性巣状系球体硬化症(FSGS)の蛋白尿発症機序を明らかにする目的で、原発性 FSGS 患者血漿とマウス培養ポドサイト細胞との direct-interaction について検討した。その結果、腎移植後 FSGS 再発患者血漿中にはポドサイトの系球体基底膜への接着に影響を及ぼす因子が含まれ、その機序に integrin-linked kinase (ILK)が関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

原発性巣状系球体硬化症(FSGS)の蛋白尿発症機序は不明であるが、患者血漿中には系球体濾過障壁の蛋白透過性を亢進させる何らかの液性因子(蛋白尿惹起液性因子:CFs)が存在する可能性が示されている。一方、蛋白尿発症におけるポドサイトの重要性と濾過障壁の分子レベルでの理解が進んでおり、CFs による直接的なポドサイト障害が key-step である可能性が想定される。そこで、腎移植後再発を認めた原発性 FSGS 患者血漿特異的に発現が変化するポドサイト関連分子群の同定を目的とした。

B. 研究方法

原発性 FSGS 患者血漿とマウス培養ポドサイト細胞(Mundel 博士より供与)との direct-interaction について、

まず cDNA アレイシステム(Clontech 社製の Atlas mouse 1.2 array)を用いてスクリーニングし、さらにその結果をもとに real-time PCR 法にて検討した。なお、コントロールとして、腎移植後再発を認めなかった原発性 FSGS 患者血漿、微小変化型ネフローゼ症候群患者血漿、ネフローゼ状態にある紫斑病性腎炎患者血漿、健常人血漿、さらに細胞毒性のコントロールとしてピューロマイシン・アミノヌクレオシドの影響についても検討した。

C. 結果

腎移植後再発を認めた原発性 FSGS 患者血漿特異的に integrin-linked kinase (ILK) mRNA 発現の亢進を認めた。

#### D. 考察・結論

ILK 蛋白発現、ILK 活性、そして vinculin 染色による細胞形態の変化については検討中であるが、腎移植後 FSGS 再発患者血漿中にはポドサイトの糸球体基底膜への接着に影響を及ぼす因子が含まれ、その機序に ILK が関与している可能性が示唆された。

#### E. 研究発表(学会発表)

1. Hattori M et al.: Analysis by cDNA array of altered gene expression in mouse cultured podocytes in response to plasma from focal segmental glomerulosclerosis patients. J Am Soc Nephrol 13:123A, 2002
2. Hattori M et al.: Induction of integrin-linked kinase (ILK) in mouse cultured podocytes after stimulation with plasma from recurrent-focal segmental glomerulosclerosis patients. J Am Soc Nephrol 14:375A, 2003

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
各個研究報告書

「IgA 腎症における尿中 IV 型コラーゲンと予後分類の関連性」

研究協力者 堀越 哲  
順天堂大学医学部腎臓内科助教授

研究要旨

IgA腎症腎生検組織におけるIV型コラーゲンのメサンギウム領域での増加は糸球体硬化と関連することが報告されている。このIV型コラーゲンの尿中排泄量測定の予後予測因子としての有用性を検討する目的で、予後分類との関連性を検討した。IgA腎症診療指針に従い予後良好群(Grade1)6例、予後比較的良好群(Grade2)8例、予後比較的不良群(Grade3)12例、予後不良群(Grade4)8例の早朝第一尿の尿中IV型コラーゲンをEIA法により測定した。尿中IV型コラーゲン排泄量は予後不良群で他の3群に比し、Grade1+2はGrade3+4に比し有意( $p < 0.05$ )に高値であった。尿蛋白1g/日以下の症例においても同様な結果であった。これらの結果から組織所見の進行に伴い蛋白1g/日以下の症例においても尿中IV型コラーゲン排泄量は増加する傾向にあると考えられ、その測定値は組織障害の指標になる可能性が示唆される。

A. 研究目的

IgA 腎症においても腎生検以外の非侵襲的な検査による診断法や予後予測因子の開発が必要とされている。IV型コラーゲンは糸球体において足細胞とメサンギウム細胞で産生されており、IgA 腎症腎生検組織におけるIV型コラーゲンのメサンギウム領域での増加は糸球体硬化と関連することが報告されている。このIV型コラーゲンの尿中排泄量測定がIgA腎症の予後予測因子となりうるかを検討する目的で、予後分類との関連性を検討した。

B. 研究方法

対象：腎生検によりIgA腎症と確定診断された34例。  
方法：IgA腎症診療指針に従い予後良好群(Grade1)6例、予後比較的良好群(Grade2)8例、予後比較的不良群(Grade3)12例、予後不良群(Grade4)8例に分類した。また、予後良好群と予後比較的良好群をGroupI、予後比較的不良群と予後不良群をGroupIIに分け、さらに各Group内で尿蛋白排泄量が1g/日以下の症例をGroupIp、GroupIipと分類した。

これらの症例の腎生検入院時、早

朝第一尿の尿中 IV 型コラーゲンを one step sandwich enzyme immunoassay (EIA) 法により測定した。

観察項目 (患者背景) : 年齢は Grade2 が Grade4 に対して若く、血圧は Grade2 が Grade3、4 に対して低かった。また、Grade4 における血清クレアチニン値は Grade 1~3 に比し有意に高く、クレアチニンクリアランスは有意に低かった ( $p < 0.05$ )。

Group I (Grade1+2:  $n=14$ ) と Group II (Grade3+4:  $n=20$ ) の比較では、年齢、血清クレアチニン値、血圧において Group I が Group II より有意に低かった ( $p < 0.05$ )。

Group I と II で尿蛋白排泄量が 1g/日以下の症例は各々 14 例 (Group Ip)、11 例 (Group IIp) で血清クレアチニン値、血圧において Group Ip が Group IIp より有意に低かった ( $p < 0.05$ )。

(倫理面への配慮)

本研究は検査結果における機密保持に配慮し、いかなる場合にも個人を特定できるものすべて公表されることがない旨の説明によるインフォームドコンセントを得たうえで行われた。

### C. 結果

尿中 IV 型コラーゲンは Grade4 で Grade1~3 に対して有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。また、予後分類における Grade の進行に伴い増加傾向にあった。Group I と II の比較では Group II で有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。

Group Ip と Group IIp の比較でも Group IIp で有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。

### D. 考察

IgA 腎症の腎生検組織において、IV 型コラーゲンの蛋白・mRNA とも上昇していることが報告されている。今回の結果は、組織障害度の高い症例ほど尿中 IV 型コラーゲン排泄量が増加していたことからこの腎における産生(あるいは分解亢進)を反映していることが示唆される。さらに、尿蛋白排泄量が 1g/日以下の症例においても同様な結果が得られたことは尿中 IV 型コラーゲンの測定が尿蛋白の少ない症例においても組織障害度を反映している可能性が示唆される。

### E. 結論

症例数を増やして再検討する必要があるが、尿中 IV 型コラーゲン排泄量は腎生検の施行できない症例における腎障害度を推測する指標の一つになりうると考えられる。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 知的所有権の出願・登録状況

なし

### H. 研究発表

#### 1. 論文発表

Io H, Hamada C, Fukui M, Horikoshi S, Tomino Y. Relationship between levels of urinary type IV collagen

and renal injuries in patients with  
IgA nephropathy. J Clin Lab Anal 18:  
14-18, 2004.

2. 学会発表

第33回（平成15年度）日本腎臓学  
会東部学術大会

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
各個研究報告書

「可逆性メサンギウム増殖性腎炎におけるアンジオテンシン II 阻害」

研究協力者 宮崎 正信  
長崎大学医学部歯学部附属病院第二内科講師

研究要旨

近年、レニン・アンジオテンシン系の阻害が腎保護作用を示すことが臨床的にも明らかとなっているが、一方、アンジオテンシンは血管再生に必要であることが報告されている。今回我々は、マウスの可逆性メサンギウム増殖性腎炎モデルにおける糸球体の修復にはアンジオテンシンIIを介したVEGFの働きが重要であることを示した。

A. 研究目的

糖尿病性腎症や慢性糸球体腎炎等の様々な腎疾患において、レニン・アンジオテンシン系のブロックによる腎保護作用の報告がなされているが、一方で、UUO(一側尿管結紮)モデルにおいてアンジオテンシン系阻害で障害が増強したとの報告もある。今回、マウスの可逆性メサンギウム増殖性腎炎モデルにおいて、アンジオテンシン II 阻害の影響を調べた。

B. 研究方法

対象・方法・評価項目・観察項目等について詳細に記載してください  
アンジオテンシン II(ANG) type1 受容体ノックアウトマウス(AT1RKO)、アンジオテンシン阻害剤投与 C57BL/6 マウス(ACEi)、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬投与 C57BL/6(ARB)および

未治療の C57BL/6 マウス(WT)を用いて検討した。それぞれのマウスにハブ毒を静注し可逆性のメサンギウム増殖性腎炎を惹起し、経時的に腎臓を採取して組織変化を調べた。そして、vascular endothelial growth factor (VEGF)、CD31(血管内皮細胞のマーカー)、IV 型コラーゲンの発現を免疫組織学的に検討した。さらに、AT1RKO に VEGF を投与し、形態学的変化や CD31、IV 型コラーゲンの発現の変化を検討した。

(倫理面への配慮)

長崎大学動物実験施設の規則に従って施行した。

C. 結果

すべての群においてハブ毒投与後 mesangiolysis と糸球体係縮構造の破

綻を認め、その後、糸球体係締の再構築とともにメサンギウム細胞増殖とメサンギウム基質の増大が起こり、WT では4週以降に糸球体構造はほぼ正常に回復した。しかし、ATIRKO、では、メサンギウム基質の増大とメサンギウム増殖が8週目まで遷延した。ARB、ACEi では、4週目まではATIRKOと同様にメサンギウム細胞、基質の増大を認めたが8週目ではWTと同程度に糸球体は修復した。糸球体内CD31陽性細胞数、VEGFの発現は、ATIRKO、ARB、ACEiでWTに比べ有意に低かったが、28日目にはARB、ACEi投与群でWTと同等の発現がみられた。IV型コラーゲンの発現は糸球体内、間質ともATIRKOでWTと比べ有意に増強したが、ARB、ACEiでは、初めの1週目まではKOと同様にIV型コラーゲンの発現は増強したが、ACEiでは4週目に、ARBでは8週目でWTと同レベルとなった。

また、ハブ毒腎炎を惹起したATIRKOにVEGFを投与すると糸球体内血管内皮細胞は、WTと同レベルまで増加し、メサンギウム基質、IV型コラーゲンの発現はWTと同等まで低下し糸球体修復が促進された。

#### D. 考察

可逆性メサンギウム増殖性糸球体腎炎のハブ毒腎炎では、WTに比較してATIRKOでメサンギウム基質およびIV型コラーゲンの発現が多く認められた。これはmesangiolysisにより

減少した糸球体血管内皮細胞数がATIRKOでは回復せず、糸球体再構築が正常に行われなかったためと考えられた。糸球体内血管内皮細胞数が回復しない原因だが、ATIRKOで糸球体内のVEGFの発現が低下していること、ATIRKOにVEGFを投与すると、WTと同等に血管内皮細胞が増加したことより、アンジオテンシンIIを介したVEGFの発現低下によるものと思われた。今回のモデルと同様の腎障害が果たしてヒトにおいて認められるかどうかは不明であるが、レニン・アンジオテンシン系阻害が血管修復という点からみると必ずしも良い面ばかりではない可能性があることを示唆しており、今後糸球体障害と修復におけるレニン・アンジオテンシン系の役割についてさらなる検討が必要と思われる。

#### E. 結論

可逆性メサンギウム増殖性腎炎の修復においてATIRを介したアンジオテンIIの働きが重要であると思われた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 知的所有権の出願・登録状況

特になし

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

・ Miyazaki M, Nishio T, et al, :

Regulation of renal extracellular matrix metabolism. *Contrib Nephrol* 139: 141-155, 2003

・ Nisioka Y, Miyazaki M: Ectopic Calcinosi. *N Eng J Med* 349:e12, 2003

・ Ashizawa M, Miyazaki M, et al, : Detection of nuclear factor-kB in IgA nephropathy using Southwestern histochemistry. *Am J Kid Dis* 42(1): 76-86, 2003

・ Nishino T, Miyazaki M, et al, : Antisense oligonucleotides against collagen-binding stress protein HSP47 suppress peritoneal fibrosis in rats. *Kidney Int* 64(3):887-896, 2003

・ Mishima Y, Miyazaki M, et al, : Enhanced expression of heat shock protein 47 in rat model of peritoneal fibrosis. *Perit Dial Int.* 23:14-22, 2003

## 2. 学会発表

・ Abe K, Miyazaki M, et al, Importance of angiotensin II type 1 receptor in bone marrow derived cells in the progression of peritoneal fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 14: 36A, 2003

・ Yoshio Y, Miyazaki M, et al, Roles of bone marrow-derived cells in experimental mouse peritoneal fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 14: 477A, 2003

・ Kinoshita T, Miyazaki M, et al, Expression of Aldosterone synthase gene in IgA nephropathy (IgAN). *J Am Soc Nephrol* 14: 376A, 2003

・ Jinnouchi C, Miyazaki M, et al, Involvement of Macrophage infiltration in the development of renal injury in

stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHR-SP). *J Am Soc Nephrol* 14: 640A, 2003

・ Hayashi W, Miyazaki M, et.al, Possible role of angiotensin II(A II) in glomerular remodeling in mouse mesangial proliferative glomerulonephritis model *J Am Soc Nephrol* 14: 412A, 2003

## 2. 学会発表

・ 阿部克成、宮崎正信、他；マウス腹膜線維症モデルにおける骨髄細胞由来アンジオテンシン I I の関与 第 46 回日本腎臓学会学術総会

・ 吉雄陽子、宮崎正信、他；腹膜線維症における骨髄由来細胞の関与

・ 木下卓哉、宮崎正信、他；IgA 腎症腎組織におけるアルドステロンの産生について 第 46 回日本腎臓学会学術総会

・ 陣内ちさ、宮崎正信、他；高血圧性腎障害におけるマクロファージの関与 第 46 回日本腎臓学会学術総会

・ 林 和歌、宮崎正信、他；アンジオテンシン type1 受容体ノックアウトマウス (ATIRKO) におけるハブ毒腎炎の増悪 第 46 回日本腎臓学会学術総会

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
各個研究報告書

「小児 IgA 腎症における副作用の少ないカクテル治療の検討」

研究協力者 吉川 徳茂  
和歌山県立医科大学医学部小児科教授

研究要旨

プレドニゾロン+アザチオプリン+ワーファリン+ジピリダモールによる2年間のカクテル治療は、びまん性メサンギウム増殖を示す小児重症型IgA腎症の治療法として有効であるが、プレドニゾロン、アザチオプリンの副作用は大きな課題である。そこで、少量プレドニゾロン+ミゾリビン+ジピリダモール+ワーファリンの効果を検討した。今回のカクテル治療はこれまでのカクテル治療と同様の効果があり、かつ、重大な副作用のないことが明らかになった。

A. 研究目的

プレドニゾロン+アザチオプリン+ワーファリン+ジピリダモールによる2年間のカクテル治療は、びまん性メサンギウム増殖を示す小児重症型 IgA 腎症の治療法として有効であるが、プレドニゾロン、アザチオプリンの副作用は大きな課題である。そこで、少量プレドニゾロン+ミゾリビン+ジピリダモール+ワーファリンの効果を検討した。

B. 研究方法

2000-2003 年、全国の多施設によるプロスペクティブスタディを行った。

1. 方法

小児 IgA 腎症で、びまん性メサンギ

ウム増殖を示す症例を、インフォームドコンセント取得後、プレドニゾロン+ミゾリビン+ワーファリン+ジピリダモールで2年間治療した。

プレドニゾロン

2mg/kg/day(分 3) (max 80mg/day)

×1ヶ月

2mg/kg/2days(分 1)

(max 80mg/day) ×1ヶ月

1.5mg/kg/2days(分 1) ×1ヶ月

1mg/kg/2days(分 1) ×9ヶ月

0.5 mg/kg/2days(分 1) ×12ヶ月

ミゾリビン

4mg/kg/day(分 2) (max 150mg/day)

×24ヶ月

ジピリダモール

3mg/kg/day(分 3)で開始し、副作用がなければ1週間から

6-7mg/kg/day(分 3)

(max 300mg/day) ×24ヶ月

ワルファリンカリウム

トロンボテストが 20-50%になる量を 1 日 1 回投与

### C. 結果

#### 1. 治療効果

22 例で治療研究をおこなった。

臨床所見は男女比 1 : 1.2 で、治療開始時平均年齢は 10 歳であった。

発症から治療開始までの平均期間は 9 か月であり、早期に治療が開始されていた。

治療開始時の平均一日尿蛋白量は 2.2 g、平均 36%の糸球体に半月体を認め、臨床的にも病理学的にも重症であった。

平均一日尿蛋白量は、治療開始時 2.2 g から、治療終了時 0.3 g と有意に減少した。

病理所見では硬化糸球体は治療前 2.7%、治療後 2.3%で、増加はなく腎炎の進行は認めなかった。

#### 2. 副作用

9 例に、高血圧、嘔気、軽度貧血、軽度白血球減少、軽度高尿酸血症、尿糖を認めたが、いずれも一過性であり、薬剤の中止が必要な症例はなかった。

### D. 考察

プレドニゾロン+アザチオプリン+ワーファリン+ジピリダモールによる 2 年間のカクテル治療は、びまん性メサンギウム増殖を示す小児重症型 IgA 腎症の治療法として有効であるが、プレドニゾロン、アザチオプリンの副作用は大きな課題である。

そこで、少量プレドニゾロン+ミゾリビン+ジピリダモール+ワーファリンの効果を検討した。今回のカクテル治療はこれまでのカクテル治療と同様の効果があり、かつ、重大な副作用のないことが明らかになった。

### E. 結論

びまん性メサンギウム増殖を示す小児重症型 IgA 腎症の治療法として、少量プレドニゾロン+ミゾリビン+ジピリダモール+ワーファリンによる 2 年間のカクテル治療は副作用が少なく、有効である。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Masuda M, Nakanishi K, Yoshizawa N, Iijima K, Yoshikawa N. Group A streptococcal antigen in the glomeruli of children with Henoch-Schönlein nephritis. *Am J Kidney Dis* 41:366-370, 2003
2. Maruyama K, Iijima K, Ikeda M, Kitamura A, Tsukaguchi H, Yoshiya K, Hoshi S, Wada N, Uemura O, Satomura K, Honda M, Yoshikawa N. NPHS2 mutations in sporadic steroid-resistant nephrotic syndrome in Japanese children. *Pediatr Nephrol* 18:412-416, 2003
3. Yoshikawa N. Immunoglobulin a Nephropathy. In "Pediatric Nephrology 5<sup>th</sup> edition" (Ed. ) Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, pp 615-628, Lippincott Williams &

Wilkins, Philadelphia, 2004

4. Nakanishi K, Honda M, Yoshikawa N. Pediatric nephrology around the world: JAPAN. In “Pediatric Nephrology 5<sup>th</sup> edition” (Ed. ) Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, pp 1491-1493, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2004
5. Nakanishi K, Sako M, Yata N, Aoyagi N, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. A-20C angiotensinogen gene polymorphism and proteinuria in childhood IgA nephropathy. *Pediatr Nephrol* 19:144-147,2004

## 2. 学会発表

Kitamura A, Tsukaguchi H, Kagami S, Hattori M, Ikeda M, Honda M, Nozu K, Yoshikawa N, Kuroda Y, Doi T, Iijima K: Genetic analysis of candidate loci in Japanese families with steroid resistant nephrotic syndrome. 36th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, San-Diego, USA, 2003.