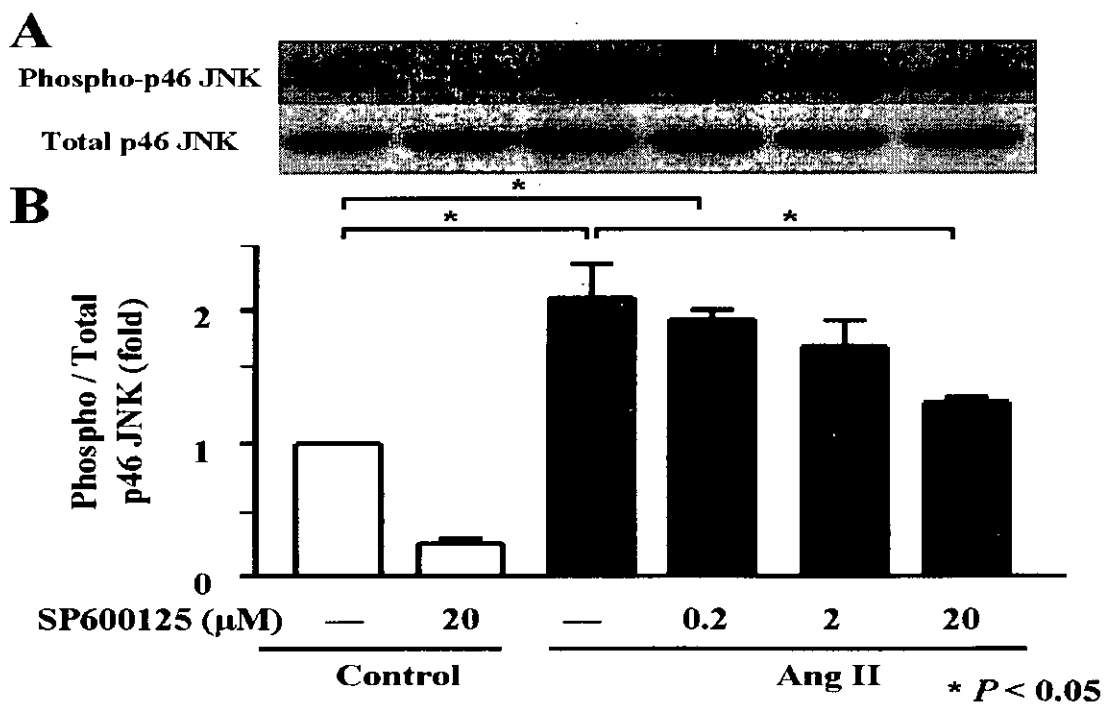
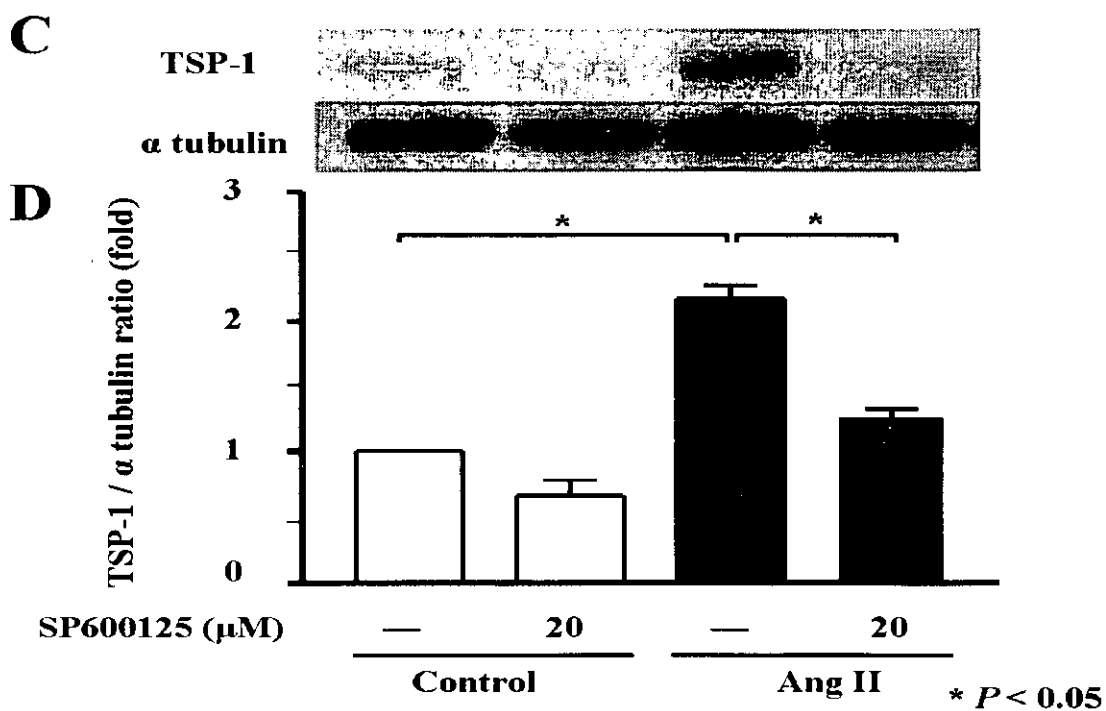


(图 19)

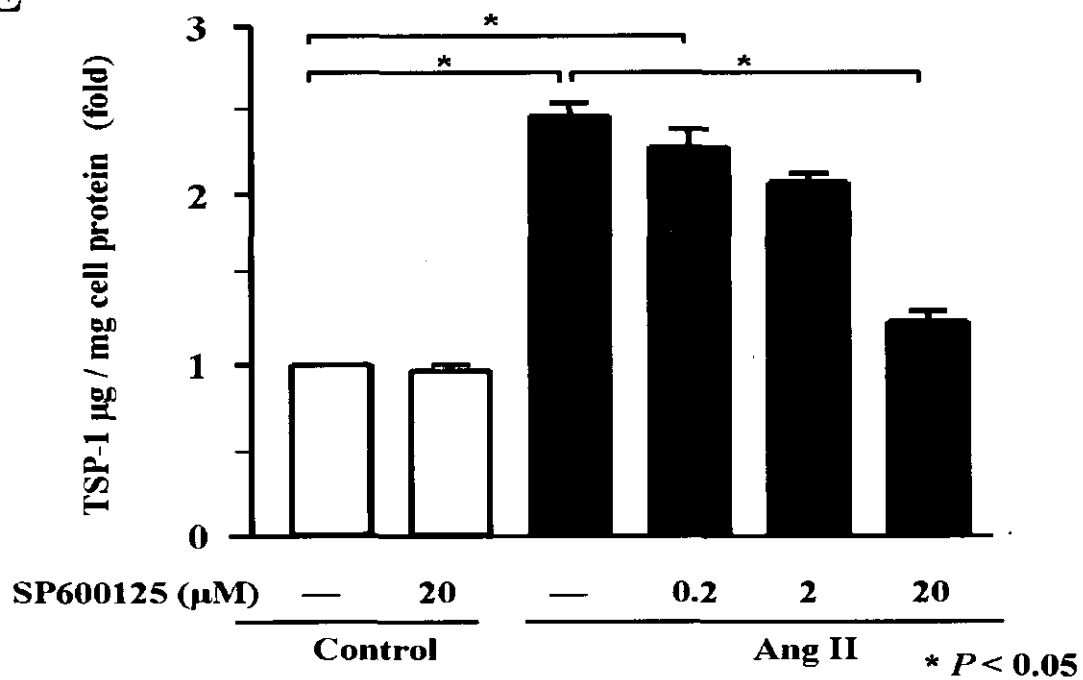


(图 20)



(图 21)

**E**



多発性嚢胞腎分科会  
分担・各個研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
多発性嚢胞腎分科会分担研究報告書

「常染色体優性多発性嚢胞腎に対する腎保護作用を考えた薬物療法」

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

高血圧を有する常染色体優性多発性嚢胞腎患者に対し、カルシウム拮抗薬 (CCB) とアンジオテンシンII受容体拮抗薬 (ARB) の腎保護作用を比較した。その結果ARBにはCCBと比較して、尿中蛋白排泄量やアルブミン排泄量を減少させ、腎機能悪化に陥る頻度を減少させる効果があることが判明した。EPAの常染色体優性多発性嚢胞腎患者に対する効果の検討は、42名の患者登録がなされているが、まだその効果を判定できる段階にはない。

<研究 1. 常染色体優性多発性嚢胞腎の腎機能に対するカルシウム拮抗薬とアンジオテンシン II 受容体拮抗薬の効果比較>

A. 研究目的

常染色体優性多発性嚢胞腎 (ADPKD) に高血圧が合併することはよく知られているが、どのような降圧剤を使用することが降圧効果、腎保護作用に関して優れているかは明らかになっていない。そこで我々はカルシウム拮抗薬 (CCB) とアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) を用いて、高血圧を有する ADPKD 患者に対する降圧効果と腎保護作用について検討した。

B. 研究方法

49 名の高血圧を有する ADPKD 患者を無作為に CCB 投与群と ARB 投

与群の 2 群に振り分け CCB 群では Amlodipine 2.5~10 mg/day を、ARB 群では Candesartan 2~8 mg/day を投与し、36 ヶ月、血圧、腎機能に関して観察した。なお研究計画書を杏林大学倫理委員会に提出し、審査後研究を開始した。また研究参加患者からは、書面による同意を得た。

C. 結果

CCB 群に割り付けられたのは男性 13 名、女性 12 名の計 25 名であった。ARB 群に割り付けられたのは男性 13 名、女性 11 名の計 24 名であった。薬剤投与前の、平均年齢、血圧、血清クレアチニン濃度 (Cr)、クレアチニンクリアランス値 (Ccr)、尿中蛋白排泄量、尿中アルブミン排泄量に差はなかった (表 1, 2)。経過観察中に Cr が 2 倍になったものと、Ccr が 1/2 に

なったものはプロトコールより除外したが、CCB 群では 36 ヶ月までに 6 例 24.0%が、ARB 群では 1 例 4.2%が脱落し、これを Kaplan-Meier 法で検討すると、ARB 群で有意に高い腎生存率が示された (図 1)。また血清 Cr は薬剤投与後 24 ヶ月と 36 ヶ月で ARB 群において有意に低値を示し、尿中蛋白排泄量は 36 ヶ月で ARB 群において有意に低値を示した。またアルブミン排泄量は、12、24、36 ヶ月で ARB 群において有意に低値を示した (表 3)。また投与開始時からの Ccr の低下率は、36 ヶ月の ARB 群で CCB 群より有意に低かった。

#### D. 考察

高血圧は ADPKD 患者の約 50-70%に見られる合併症で、腎機能が悪化する以前から発症し、腎機能の悪化のスピードと、脳動脈瘤破裂の危険性を増加させる。以上より ADPKD 患者の血圧管理は臨床的に非常に重要であるが、ADPKD 患者の高血圧に対して、どのような降圧剤を使用するのが一番効果的かということに関しては、結論が出ていない。近年様々な腎疾患でアンジオテンシン変換酵素阻害薬(ACEI)や ARB の腎保護作用が報告されているが、ADPKD 患者では、ACEI の腎保護作用が確認できなかったり、CCB よりその効果が劣るといった報告が見られるのみであった (Maschio: N Engl J Med 334: 939, 1996. Kanno: QJ Med. 89: 65, 1996)。最近 Ecder らは ADPKD 患者に対して、

ACEI 投与が CCB 投与に比較して、Ccr で見た腎機能に変わりはないものの、尿中アルブミン排泄量を減少させると報告している (Am J Kidney Dis. 35: 427, 2000)。我々のデータはさらに進んで、ARB は CCB より Ccr で見ても腎保護作用があることを示しており、今後の ADPKD 患者の高血圧治療に対して、新しいエビデンスを示したといえる。

#### E. 結論

Candesartan は Amlodipine と比較し、高血圧を有する ADPKD 患者の腎機能悪化を緩和する腎保護作用があると考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 知的所有権の出現登録状況

なし

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

香村 衡一：常染色体優性多発性嚢胞腎 (2) 臨床症状・診断・合併症. 臨床透析 18: 515-524, 2003.

奴田原紀久雄、東原英二：常染色体優性多発性嚢胞腎 (3) 高血圧の機序と治療. 臨床透析 18: 525-531, 2003.

花岡一成、川口良人：腎不全と関連する他の嚢胞性腎疾患 (2) 常染色体劣性多発性嚢胞腎. 臨床透析 18: 555-560, 2003.

奴田原紀久雄、東原英二：常染色体

優性多発性嚢胞腎 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？ 富野康日己他編集, EBM 腎臓病の治療 2003-2004。Pp.282-288, 中外医学社, 東京, 2003 年

## 2. 学会発表

奴田原紀久雄、堀江重郎、東原英二：常染色体優性多発性嚢胞腎に対するアンジオテンシン II 受容体拮抗薬の効果 第 26 回日本医学会総会 福岡 2003 年 4 月 6 日

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 45 回日本腎臓学会学術総会 公開シンポジウム 大阪 2003 年 5 月 23 日

## <研究 2.イコサペント酸の腎保護作用の検討>

### A. 研究目的

ADPKD の病態は体細胞変異を起こした腎尿細管上皮細胞から嚢胞が発生し、嚢胞上皮細胞の増殖と嚢胞液の異常な分泌、さらに嚢胞周囲組織の細胞外マトリックスの変性・炎症により特徴づけられる。大豆蛋白の投与は、ADPKD 動物モデルである Han; SPRD ラットの嚢胞形成を抑制する。これは大豆蛋白に含まれる  $\omega$  3 不飽和脂肪酸である  $\alpha$  リノレン酸が抗炎症作用を持つことによると考えられる。そこで今回我々は  $\omega$  3 不飽和脂肪酸であるイコサペント酸

(商品名エパデール:EPA) の ADPKD の腎不全進行に対する緩和効果を検討する研究を開始した。

### B. 研究方法

参加各施設に於ける倫理委員会の審査を経た後研究を開始した。参加患者からは、書面による同意を得ている。15 歳以上 70 歳未満の終末期腎不全に至っていない ADPKD 患者を、性別、年齢、腎機能 (クレアチニン値)、高血圧の有無、で無作為に EPA 投与群と非投与群に振り分け、エパデール 2400mg を 2 年間投与し、腎機能を 6 ヶ月ごと、腎容積を 1 年ごとに測定する。また降圧剤としては、ARB を第一選択として用いる。

### C. 結果

2003 年末までに、ADPKD 患者 42 名が登録され、性別、年齢、腎機能、高血圧の有無で差が生じない様に無作為に EPA 投与群 22 例と非投与群 20 例に割り振りした (表 1)。研究開始前データを表 2、3 に示す。EPA 投与開始前のデータとして年齢、腎機能 (BUN, Cr, Ccr)、総コレステロール、中性脂肪、尿酸値、尿中アルブミン排泄量に両群間に差はなく、また  $\omega$  3/ $\omega$  6 や EPA/AA にも差がなかった (表 4)。今後経時的に腎機能を追跡し比較していく予定である。

### D. 結論

研究が開始されたばかりで、現時点では EPA の有用性を論じることは

出来ない。

**E. 健康危険情報**

なし。

**F. 知的所有権の出現登録状況**

なし

**G. 研究発表**

1. 論文発表

Tomohito Hamazaki, Alice Thienprasert, Kanit Kheovichai et al.: The effect of docosahexaenoic acid on aggression in elderly thai subjects — a placebo-controlled double-blind study. *Nutritional Neuroscience*, 5(1): 37-41, 2002.

Tomohiro Hamazaki, Harumi okuyama .: The Japan society for lipid nutrition recommends to reduce the intake of linoleic acid — A review and critique of the scientific evidence. *World Rev Nutr Diet*, 92: 109-132, 2003.

Kei Hamazaki, Miho Itomura, Mingming Huan et al.: n-3 long-chain FA decrease serum levels of TG and remnant-like particle-cholesterol in humans. *Lipids*, 38(4): 297-496, 2003.

2. 学会発表

なし

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

「常染色体優性多発性嚢胞腎の腎容積と腎機能の関係について」

研究協力者 奴田原 紀久雄、桶川 隆嗣、東原 英二  
杏林大学医学部泌尿器科

研究要旨

常染色体優性多発性嚢胞腎(ADPKD)では腎容量と高血圧の重症度の間に関係があるといわれている。今回ADPKD患者における腎容量と腎機能の関係を検討したところ、腎容量が増大すると、尿中アルブミン排泄量が増加し、Ccrが低下する傾向が見られた。ADPKD患者における腎容量の増大は、腎機能障害と平行して起こっている可能性がある。

A. 研究目的

常染色体優性多発性嚢胞腎(ADPKD)では腎容量と高血圧の重症度に関係があるといわれている。ADPKDにおいて高血圧は腎機能悪化の危険因子の一つであることより、腎容量と腎機能の間に何らかの関係があると考えられる。そこで今回CTで予測される腎容量と、クレアチニンクリアランス(Ccr)、尿中アルブミン排泄量、尿中NAG排泄量を比較検討した。

B. 研究方法

14名のADPKD患者(男性8名、初回検査時平均年齢40.5歳、女性6名、初回検査時平均年齢43.1歳)に対して28回の24時間Ccr、尿中アルブミン排泄量、尿中NAG排泄量と、CTによる腎容量の同時期測定を施行した。

腎容量は各腎臓を回転楕円体と想定し、左右各々を下式で計算し、それぞれの容量を加算して算出した。

$$\text{腎容量} = 4\pi/3 \times (\text{前後径}/4 + \text{左右径}/4)^2 \times \text{上下径}/2$$

なお個々の患者データより個人名が推定されないように、各々に患者コードを作成し、これを用いて検査成績を検索、計算した。

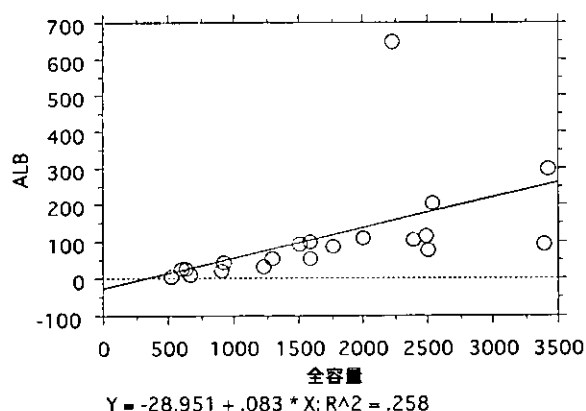
C. 結果

腎容量が2000ml未満のもののCcrは75.0±28.0 ml/minで、腎容量2000ml以上のCcr 48.4±24.9 ml/minより有意に高値であった。また尿中アルブミン排泄量は各々54.8±35.9、222.5±204.5 mg/dayで2000ml未満のもので有意に低値であった。しかし尿中NAG排泄量には両群間で差がなかった。また腎容量とCcrの間、および尿中



アルブミン排泄量の間には各々相関係数 $-0.387$ 、 $0.508$ の有意な相関を認めた。特に尿中アルブミンと腎容量の間には  $y = -28.9 + 0.08x$  で示される有意の回帰を認めた (図1)。

図 1. 腎容量と尿中アルブミン排泄量の関係



#### D. 考察

尿中アルブミン排泄量増加は糖尿病性腎症進展や高血圧性腎硬化進展の危険因子になる。ADPKDにおいて腎容量増加に伴い尿中アルブミン排泄量増加していくことは、将来的に腎容量の大きなものは腎不全に陥りやすいことを示している可能性がある。実際腎容量と Ccr の間にも弱いながら有意の負の相関があり、腎容量増加に伴い腎機能が悪化する傾向が示された。

#### E. 結論

ADPKD 患者において、腎容量増大

は腎機能障害と平行して起こってくると思われた。

#### 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

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

第47回日本腎臓学会学術総会発表予定

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

「多発性嚢胞腎のデータベースに関する研究」

研究協力者 香村 衡一、柏原 英彦\*  
国立千葉東病院泌尿器科、\*聖隷佐倉市民病院

研究要旨

多発性嚢胞腎の将来のデータベースの基礎となりうるような臨床経過表を文献や当院の症例を検討して私案した。

A. 研究目的

多発性嚢胞腎診療に有用で、将来のデータベースの基礎となりうる臨床経過表を作成する。

B. 研究方法

当院の症例や文献から、データベース項目として重要で診療上も臨床経過を見てゆくために重要である項目を項目数とチェック期間について検討して、1枚の表に入るようにする。

（倫理面への配慮）

表に姓名の記入欄をいれない。

C. 結果

Cr 検査日を基準として1年毎の記入日で、生年月日、年齢、性、身長、体重、透析導入日、死亡日、移植日、血圧、高血圧の現病既往降圧剤の有無、血清Cr、24時間Ccr、 $\gamma$ GTP、尿酸、総コレステロール、Hb、尿蛋白、尿潜血・微細血尿濃尿、肉眼的血尿、

腰背部疼痛症、腹部腫大症状、腹部CT撮影日、CT上右腎・左腎縦径、嚢胞肝、家族歴嚢胞腎・脳卒中、脳卒中、脳動脈瘤破裂、頭部MRA・AG上の脳動脈瘤、嚢胞感染症、尿路結石症、生活習慣として、喫煙、コーヒー、大豆製品、嚢胞関連の開腹、鏡視下手術、嚢胞穿刺術、肝・腎TAE、不妊症治療としての蛋白制限、塩分制限、クレメジン、重曹、ACEI、ARB、Ca拮抗剤、その他特記事項とした。補足事項として、CTは5年毎、透析後は1年毎、MRAは脳卒中の家族歴のあるものを対象とする。これらの記入は選択肢か数値記入とした。

D. 考察

この表を使用することで経過の問題点が把握しやすくなるを考える。選択肢か数値記入なのでコンピュータ処理がしやすい。

#### **E. 結論**

将来のデータベースの基礎となり  
うる臨床経過表を私案した。

#### **F. 健康危険情報**

なし

#### **G. 知的財産権の出願・登録状況**

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし

#### **H. 研究発表**

##### 1. 論文発表

多発性嚢胞腎—ここ 10 年の進展と  
2002 年の話題—、医療 57、551-557、  
2003

##### 2. 学会発表

PKD データベース私案、第 11 回嚢胞  
性腎疾患研究会、2003、東京

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
各個研究報告書

「多発性嚢胞肝腫大機序の解明と治療の試み」

研究協力者 乳原善文、竹井亮二\*、星野純一、田上哲夫、澤 直樹、  
横田雅史、香取秀幸、竹本文美、高市憲明、原 茂子\*\*  
虎の門病院腎センター内科、同放射線科\*、同健康管理センター\*\*

研究要旨

我々は多発性嚢胞腎に対して腎動脈塞栓術を施行して腎縮小化に成功したことから、嚢胞形成に著明な血管増生(新生)が関与していることを報告してきた。腎と同様な機序が肝にも関与しているかどうかを腫大機序がまだ不明とされている症候性の polycystic liver 患者 40 名(男 11、女 29、透析患者 28、非血液透析患者 12)につき検討し、さらに外科的治療が主体であった本症患者においても肝動脈塞栓術が有効かどうかを検討した。特定の肝区域がほぼ完全に嚢胞に置き換わり結節膨隆状を呈した症例が 38 例で、嚢胞がび漫性に分布し局在化が乏しい症例が 2 例みられた。前者の嚢胞化した肝区域での血管分布の特徴は門脈区域枝が完全消失或いは狭小化して存在するも末梢枝が消失していることであり、肝動脈区域枝についてはその発達が著明であった。後者では門脈分枝の残存がみられた。この主に門脈が閉塞し肝動脈のみが著明に発達し嚢胞に置き換わった肝区域の動脈のみを塞栓治療の対象として施行した。多くの症例では効果的であったが、しかし治療前に嚢胞感染のため全身状態が不良であったり、肝不全が進行した一部の症例においては本治療法にも限界がみられた。多発性嚢胞肝が腫大して症候化するのには門脈枝が何らかの原因で消失退縮することでおこる門脈虚血を感知して血管新生因子が産生され、嚢胞胆管系支配血管である肝動脈の血管新生を促し、ひいては嚢胞形成を促進することが推察された。さらに嚢胞に置き換わった肝区域が肝動脈よりのサポートを受けその後も膨隆を続けることが本症の肝腫大の要因になることが推察された。

A. 研究目的

我々は多発性嚢胞腎に対して腎動脈塞栓術を施行して腎縮小化に成功した

ことから、嚢胞形成に著明な血管増生(新生)が関与していることを報告してきた。腎と同様な機序が肝にも関与

しているかどうかを腫大機序がまだ不明とされている症候性の polycystic liver 患者に対し肝動脈塞栓術が有効かどうかを検討した。

## B. 研究方法

症候性の polycystic liver 患者 40 名（男 11、女 29、透析患者 28、非血液透析患者 12）につき検討し、その CT 像と血管造影所見を対比して、血管分布と嚢胞形成の関係を考察し、さらに外科的治療が主体であった本症患者においても肝動脈塞栓術が有効かどうかを検討した。

## C. 研究結果

現時点までにADPKD患者226人のうち206人に対して腎動脈塞栓術を施行した。そのうち184名は腎優位型であり腎動脈塞栓術のみで効果的であった。22名は肝腎両者共腫大しており腎動脈塞栓術は効果的であったが、さらに肝臓に対する治療も必要とされた。一方残りの18名は肝優位型であり腎動脈塞栓術は無効であり絶対的に肝臓に対する治療が必要であった。この肝腫大を認めた40人を対象とした。そのうち24例は特定の肝区域がほぼ完全に嚢胞に置き換わり結節膨隆状を呈しており、区域門脈枝がほぼ消失していた。14例は区域門脈は若干残っているものの末梢枝は消失していた。残りの2例は区

域の殆どが嚢胞で占められているものの、門脈末梢枝も少し残存していた。一方肝動脈分枝は何れも著明な発達がみられていた。門脈がほぼ閉塞した肝区域の肝動脈を塞栓治療の対象として施行した。多くの症例では効果的であったが、TAE後に死亡した症例も5例みられた。死亡原因は元々あった心臓病変が原因で死亡した症例が3例。難治性の嚢胞感染のため死亡した症例が1例。TAE1年後までは経過良好であったが、腹膜炎のため死亡した症例が1例であった。一方TAEをする前或いは実施を見送った症例での死亡例が6例みられた。乃ち治療前に嚢胞感染のため全身状態が不良であったり、肝不全が進行した一部の症例においては本治療法にも限界がみられた。1年以上経過を追えた7症例に対してCTを使ったNIHimageで計測した所、肝臓容積の前値  $13.255 \pm 2.993 \text{cm}^3$  が1年後には  $8.444 \pm 2.613 \text{cm}^3$  にまで縮小がみられた。

## D. 考察

多発性嚢胞肝が腫大して症候化するのには門脈枝が何らかの原因で消失退縮することでおこる門脈虚血を感知して血管新生因子が産生され、嚢胞胆管系支配血管である肝動脈の血管新生を促し、ひいては嚢胞形成を促進することが推察された。さらに嚢胞に置き換わ

った肝区域が肝動脈よりのサポートを受けその後も膨隆を続けることが本症の肝腫大の要因になることが推察された。

#### E. 結論

多発性嚢胞肝に対する治療法はこれまでは肝切除術或いは肝移植といった外科的治療が主体であった。我々が施行し始めた血管内治療である肝動脈塞栓術は恐らくこれまでの外科的治療の限界を超えた治療の適応範囲があるが、ある一線を超え全身状態が不良となった症例に対しては治療に限界がみられた。将来は血管新生機序を抑制する内科的治療の開発が必要と考えられた。

#### F. 健康危険情報

治療後にみられる発熱や痛みがあるが、腎動脈塞栓術にみられるものより軽度であった。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

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

4. Ubara Y et al: Intravascular Embolization Therapy in a Patient with an Enlarged Polycystic Liver. Am J Kidney Dis, 2004 (in press).
2. 学会発表
  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,
  5. Ubara Y et al: Proposal of cyst growth mechanism based on angio-arteriogenesis for ADPKD. The American Society of Nephrology, Nov 12-17, 2003, San Diego
  6. Ubara Y et al: New treatment for intractable patients with symptomatic polycystic liver. The American Society of Nephrology, Nov 12-17, 2003, San Diego

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

「イコサペント酸による常染色体優性遺伝多発性嚢胞腎の治療」

研究協力者 浜崎 智仁

富山医科薬科大学和漢薬研究所臨床科学研究部門教授

**研究要旨**

常染色体優性遺伝多発性嚢胞腎の患者に対して、イコサペント酸を投与し、その効果を検討する。

**A. 研究目的**

常染色体優性遺伝多発性嚢胞腎（以下多発性嚢胞腎）は、腎臓をはじめとする臓器に嚢胞が多発する遺伝性疾患で、罹患率が約 1,000 人に 1 人と、遺伝性腎疾患の中で最も頻度が高い。多発性嚢胞腎の病態は一部の腎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、腎実質の炎症が起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過程の 2 つの特徴を持つ。多発性嚢胞腎の動物モデルのひとつである Han:SPRD ラットや DBA/2FG-*pcy* マウスでは食餌に大豆を加えることにより嚢胞形成が抑制されたという報告が最近注目されている。大豆に含まれる $\omega$ 3 不飽和脂肪酸である $\alpha$ リノレン酸が抗炎症作用を持つことによるものと考えられている。本研究では、 $\omega$ 3 不飽和脂肪酸であるイコサペント酸（ethyl-icosapentate、商品名エパデール、持田製薬より発売）が

現在高脂血症に対する医薬品として認可され、かつ臨床上の副作用が少ないことから、イコサペント酸の多発性嚢胞腎の腎不全進行に対する薬効を検討するものである。

**B. 研究方法**

15 歳以上 70 歳未満の終末期腎不全に至っていない多発性嚢胞腎患者を対象とする。出血性消化性潰瘍などの出血性病変を有する患者、頭蓋内動脈瘤がある患者、妊娠予定患者・または妊婦は除外する。予定患者数は 40 名で、研究期間は、3 年間（2003 年 4 月 1 日-2006 年 3 月 31 日）とする。当研究所では、回収された検体の処理（赤血球・血漿の分離）を行い、脂肪酸の解析を行う。また、同時に食事調査（思い出し法）の解析を行う。

**C. 結果**

下記にエントリー時における血漿中総脂質脂肪酸組成を示す。両群間

(対照群 n=14 人、EPA 服用群 n=18 人)において、特に有意差は認められなかった。赤血球膜中リン脂質組成については、現在ガスクロマトグ

ラフィーにより測定中である。また、食事調査に関しては現在解析中である。

表 1. エントリー時における血漿中総脂質脂肪酸組成 (mol%)

脂肪酸	化学式	Group	
		対照群 (n=14)	EPA服用群 (n=18)
ラウリン酸	C 12:0	0.26 ± 0.23	0.36 ± 0.42
ミリスチン酸	C 14:0	0.96 ± 0.36	1.08 ± 0.70
ミリストレイン酸	C 14:1 n-5	感度未滿	0.14 ± 0.02
パルミチン酸	C 16:0	24.08 ± 1.39	24.26 ± 2.40
パルミトレイン酸	C 16:1 n-7	2.03 ± 0.56	2.04 ± 0.57
ステアリン酸	C 18:0	6.60 ± 0.49	6.40 ± 0.56
オレイン酸	C 18:1 n-9	18.80 ± 2.72	20.26 ± 3.63
リノール酸	C 18:2 n-6	30.91 ± 2.91	30.80 ± 4.80
α-リノレン酸	C 18:3 n-6	0.26 ± 0.08	0.26 ± 0.14
δ-リノレン酸	C 18:3 n-3	0.75 ± 0.25	0.82 ± 0.19
アラキジン酸	C 20:0	0.19 ± 0.03	0.18 ± 0.05
11-エイコセン酸	C 20:1 n-9	0.18 ± 0.04	0.22 ± 0.11
エイコサジエン酸	C 20:2 n-6	0.29 ± 0.06	0.30 ± 0.05
5,8,11-エイコサトリエン酸	C 20:3 n-9	0.19 ± 0.03	0.19 ± 0.04
ジホモ-α-リノレン酸	C 20:3 n-6	0.80 ± 0.20	0.77 ± 0.21
アラキドン酸	C 20:4 n-6	4.89 ± 0.84	4.48 ± 1.34
エイコサペンタエン酸	C 20:5 n-3	2.18 ± 1.42	1.86 ± 1.46
ベヘン酸	C 22:0	0.49 ± 0.08	0.46 ± 0.13
エルシン酸	C 22:1 n-9	感度未滿	0.02 ±
ドコサテトラエン酸	C 22:4 n-6	0.14 ± 0.03	0.13 ± 0.05
ドコサペンタエン酸	C 22:5 n-3	0.64 ± 0.18	0.61 ± 0.17
リグノセリン酸	C 24:0	0.40 ± 0.07	0.38 ± 0.11
ドコサヘキサエン酸	C 22:6 n-3	3.98 ± 1.11	3.55 ± 1.29
ネルボン酸	C 24:1	0.95 ± 0.19	0.87 ± 0.30

mean ± SD

#### D. 考察・結論

血漿中総脂質脂肪酸組成の一部結果だけであるが、両群間で特に有意差はなく、振り分けに問題ないと考えられる。

#### E. 健康危険情報

特になし。

#### F. 知的所有権の出願・登録状況

特になし。

#### G. 研究発表

論文・学会発表

未定



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

「ADPKD の嚢胞形成における cAMP の関与について」

研究協力者 花岡 一成  
神奈川県衛生看護専門学校付属病院内科  
(東京慈恵会医科大学医学部腎臓高血圧内科)

研究要旨

常染色体優性多発性嚢胞腎は腎臓に多発性嚢胞を形成する遺伝性腎疾患である。嚢胞腎患者の嚢胞上皮を用いた in vitro 培養系では、cAMP により細胞増殖や嚢胞内液分泌が促進することを証明し、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

常染色体優性多発性嚢胞腎 (ADPKD) は腎臓に多発性嚢胞を形成する遺伝性腎疾患である。嚢胞は尿細管より発生し、嚢胞上皮の細胞増殖や分泌作用がその拡大進展関与していることがわかっているが、詳細な機序はまだ不明である。我々は ADPKD 患者の嚢胞上皮細胞を培養して、cAMP の細胞増殖や嚢胞液分泌に対する作用の検討を行った。

B. 研究方法

(使用した細胞)

ADPKD 患者の摘出された腎臓にある嚢胞上皮より primary culture を確立し (ADPKD cell)、以下の実験に使用した。また正常尿細管細胞として、Clonetics 社より腎臓皮質上皮細胞 (HRCE cell) を購入した。

cAMP に対する ADPKD cell と HRCE cell の反応性を以下の実験により検討した。

- 1) Thymidine 取り込み実験
- 2) 細胞増殖
- 3) in vitro における嚢胞形成

今回の実験では、細胞内 cAMP 濃度を高めるため、細胞膜透過性のある、Sp - cAMP、CPT - cAMP、8Br - cAMP および forskolin を使用した。

(倫理面への配慮)

今回の検討では、ADPKD 患者が、摘出された腎臓を研究目的で使用することに同意し、PKD foundation へ献腎したものを使用した。氏名等の患者プライバシーに関する情報は公表されていない。

## C. 結果

### 1) Thymidine 取り込み実験

EGF が尿細管上皮細胞の増殖を促進することは知られている。ADPKD cell と HRCE cell に cAMP and/or EGF を投与したところ、ADPKD cell では cAMP 投与により thymidine 取り込みが増加することがわかった。EGF は、cAMP の thymidine 取り込みを増強する。一方、HRCE cell では EGF により thymidine 取り込みが増加するが、cAMP は何の影響も与えなかった。

### 2) 細胞増殖

ADPKD cell と HRCE cell に cAMP を投与したところ、thymidine 取り込み同様、ADPKD cell でのみ細胞増殖がおこり、EGF はその作用を増強した。

### 3) in vitro における嚢胞形成

ADPKD cell、HRCE cell を type - I collagen の 3 次元培地中で培養し、cAMP を投与したところ、ADPKD cell では嚢胞が拡大し、EGF はその効果を増強した。3 次元培養の培養液中に Cl チャンネル阻害剤をさらに添加すると、DPC と Glibenclamide では嚢胞拡大が抑制されたが、DIDS では抑制は見られなかった。

## D. 考察

cAMP は一般に細胞分化に関係し、細胞増殖を誘導する報告は少ない。実際、正常尿細管細胞の特徴をもつ HRCE cell では cAMP 投与により細胞

増殖は起こらなかった。一方、嚢胞上皮由来の ADPKD cell では cAMP は EGF と相加的に細胞増殖をきたし、3 次元培養では嚢胞の拡大を促進した。また cAMP により嚢胞液の分泌が促進し、Cl チャンネル阻害剤である DPC と Glibenclamide が分泌を抑制することから、以前我々が報告した ADPKD cell の cAMP で活性化される Cl チャンネルが嚢胞液の分泌作用に関与していることを示唆した。

## E. 結論

cAMP は in vitro で嚢胞上皮細胞の細胞増殖および嚢胞液分泌を促進し、嚢胞拡大に重要な役割を果たしていると考えられる。

## 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. 知的所有権の出現登録状況

なし

## H. 研究発表

### 1. 論文発表

Hanaoka K and Guggino WB. J Am Soc Nephrol 11:1179-1187, 2000

### 2. 学会発表

Hanaoka et al. Annual Meeting of Am.Soc.Nephrol, 1998

(Hanaoka et al. J.Am.Soc.Nephrol. 9. 1998)

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

「Polycystin-1 は endothelin-1 (ET-1) による mitogen-activated protein kinase (MAPK) の活性化を媒介する」

研究協力者 武藤 智、岡田 弘、日高 寿美\*、堀江 重郎  
帝京大学医学部泌尿器科、\*帯津三敬病院内科

研究要旨

我々は以前から *Pkd1* 遺伝子のノックアウトマウス *Pkd1* (del2-6)を作成し本調査班においても報告してきた。*Pkd1* (del2-6)は標的遺伝子の exon2-5 の全てと exon6 の一部を neo 遺伝子にて置換することにより欠失させている。胎生 14 日から 14.5 日までは *Pkd1* (del2-6)ホモ欠損マウスにおいても腎臓の正常な発育が観察されたが、尿細管が成熟を始める胎生 15.5 日頃から腎嚢胞の形成が認められた。胎生 16.5 日ではホモ欠損マウス全例に嚢胞が観察され、胎生 18.5 日には多数の大小さまざまな嚢胞で腎実質は置換され、腎臓も腫大していた(図 1)。野生型およびヘテロ欠損マウスに嚢胞は認められなかった。

ホモ欠損マウスは胎生 14.5 日から著しい浮腫、全身出血、羊水過多、顎形成異常を生じ胎生致死であった(図 2)。胎生 16.5 日では、さらに浮腫が進行し四肢発達の遅延が認められた。その死因を解明するため全身の著しい浮腫を認めたことから心臓病変の存在を疑い検索を行った。胎生 12.5 日から 16.5 日まで 21 匹のホモ欠損マウス胎仔心臓を組織学的に検索したところ、ホモ欠損マウスには心臓神経堤細胞の移動の異常を示唆する両大血管右室起始症 DORV および心室中隔欠損 VSD が認められた(図 3)。DORV は胎生 12.5 日において 7 例中 3 例(43%)、胎生 13.5 日において 9 例中 4 例(44%)、胎生 16.5 日において 5 例中 4 例(80%)に認められた。これらの異常は野生型では認められなかった。

A. 研究目的

両大血管右室起始症は心臓神経堤細胞の異常な遊走に起因し、endothelin-1 やその受容体であるエンドセリン A 受容体などの遺伝子欠損マウスの表現型として知られている。polycystin-1 は神経堤細胞由来臓器に

おいても発現が認められるため、polycystin-1 が endothelin-1 のシグナル伝達に関与している可能性があると考えられ、検討を行った。

B. 研究方法

1) mouse embryonic fibroblast(MEF)の

## 樹立

胎生 12.5 日の胎仔より MEF を樹立した。培地は 10% fetal bovine serum(FBS)、50 units/ml penicillin / streptomycin (Life Technologies, Eggenstein, Germany)、2mM L-glutamine (Life Technologies, Eggenstein, Germany) を加えた Dulbecco's Modified Eagle Medium(high glucose)(DMEM : Life Technologies, Eggenstein, Germany) を用い、100mm cell culture dish にて 37°C、5%CO<sub>2</sub>、湿度 90%の条件で培養した。継代には trypsin-EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid) ; 0.5%trypsin, 5.3mM EDTA /PBS を用いた。

## 2) MEF のサイトカインおよび高浸透圧による刺激

培地から血清を除いて、MEF を 24 時間 incubation する。その後、それぞれ NaCl 500mM(高浸透圧刺激)、hepatocyte growth factor (HGF)(Sigma, St. Louis, MO)50ng/ml、endothelin-1(ET-1)(Sigma, St. Louis, MO) 100nM にて刺激し蛋白質を抽出した。

## 3) reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

RT-PCR は One Step RNA PCR Kit (AMV)(Takara Shuzo, Otsu, Shiga)を用い、1μg の mRNA を逆転写し、得られた cDNA を PCR で増幅した。PCR は最終反応容量が 20μl で、PCR mixture には 200μM each deoxynucleotide triphosphate、2mM Tris-HCl (pH 8.0)、10mM KCl、0.01mM EDTA、0.1mM DTT、0.05% Tween 20、

0.05% Nonidet P-40、5% Glycerol、6pmol of each primers、0.5unit of Ex.Taq™ DNA polymerase (Takara Shuzo Co., Tokyo, Japan)を含む。DNA 増幅装置は Gene Amp™ PCR System9600 (PERKIN ELMER, Norwalk, CT)を用いた。

## 4) mitogen-activated protein kinase (MAPK) / extracellular signal-regulated kinase (ERK)gel shift assay

30%Acrylamide/Bis 37.5:1 を用いた upper gel と 29.9:0.1 を用いた lower gel を作製し、蛋白質 3μg にて SDS-PAGE を行った。

## 5) c-MYC の蛋白レベルでの発現

電気泳動後のゲルはタンク型装置 (wet transfer)もしくはセミドライ型装置 (semidry transfer) を用いて、electrophoretic transfer を行った。Transfer 膜には polyvinylidene difluoride (PVDF) 膜 (Millipore, Bedford, MA)を用いた。蛋白質の泳動量および transfer の均一性の確認のため、blotting 後のゲル内の蛋白質の検出には Coomassie blue による色素検出を行った。Transfer 後の膜は 3%BSA (bovine serum albumin) /TBST (TBS/0.1% Triton-X) 液にて 4°C overnight の blocking を行う。TBST 液で洗い、blotting は 3%BSA/TBST 液にそれぞれの希釈濃度で一次抗体 (monoclonal anti-c-myc antibody : NeoMarkers, Fremont, CA)を入れ、室温にて 1 時間振とうした。TBST にて 10 分 5 回洗浄後、3%BSA/TBST 液にペルオキシダーゼ標識 2 次抗体