

「IgA 腎症の蛋白尿減少および腎機能保持におけるアンジオテンシン変換酵素阻害薬及びアンジオテンシン II 受容体拮抗薬の有用性に関する文献的検討」

小此木英男、川村哲也、宇都宮保典、細谷龍男

東京慈恵会医科大学腎臓・高血圧内科

研究要旨

PubMedにてIgA腎症と、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬およびアンジオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)という語句のクロス検索を行い、さらに研究方法がrandomized controlled study (RCT)である文献を対象に、IgA腎症の蛋白尿減少および腎機能保持における両薬剤の有用性に関して文献的解析を行った。クロス検索語ACE阻害薬では25件、ARBでは5件、両者に重複する5件の、計25件の文献を得た。その中でIgA腎症症例のデータが明らかな原著論文を抽出し、短期間(4-16週)の観察期間の文献を用いて、ACE阻害薬およびARBの蛋白尿減少効果、腎機能に及ぼす影響に関するメタ解析を行った。その結果、蛋白尿減少効果(要約平均値)は、ACE阻害薬では、0.74g/日、ARBでは0.68g/日であった。腎機能保持効果に関して有意な変化を認めた報告はなかった。対象をIgA腎症に限定して長期間経過観察したRCTは現時点では一編のみで、ACE阻害薬投与による腎機能保護効果は観察期間4年以後で認められている。以上より、IgA腎症に対するACE阻害薬およびARBの蛋白尿減少における有用性はメタ解析からも明らかとなった。しかし、腎不全への進展阻止からみた有用性は長期間経過観察による報告がわずかであり、今後のさらなる検討が必要である。

A. 研究目的

IgA 腎症の蛋白尿減少および腎機能保持におけるアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬およびアンジオテンシン II 受容体拮抗薬(ARB)の有用性について文献的に検討する。

B. 研究方法

オンライン検索できる 1966 年以後の文献を対象として、PubMed により IgA 腎症 (IgA, IgA nephropathy/nephritis) と、ACE 阻害薬 (ACE, angiotensin converting enzyme/ACE inhibitor) あるいは ARB (ARB, angiotensin II receptor

blocker/antagonist, AT1 receptor blocker/blockade/antagonist) という語句でのクロス検索を行い、さらに研究方法が randomized controlled study (RCT) である文献を限定した (2004 年 12 月時点)。クロス検索語 ACE 阻害薬では 25 件、ARB では 5 件、両者に重複する 5 件の、計 25 件の文献を得た。その中で IgA 腎症症例のデータが明らかな原著論文を抽出した。短期間 (4-16 週) の観察期間の文献を用いて、ACE 阻害薬および ARB の蛋白尿減少効果、腎機能に及ぼす影響に関するメタアナリシスを行った。

C. 結果

蛋白尿減少効果は、ACE 阻害薬では、要約平均値 0.74g/日 (の減少効果) (95%信頼区間 0.35~1.15g/日) で、ARB では要約平均値 0.68g/日 (95%信頼区間 0.35~1.01g/日) であった。腎機能保持効果に関しては、観察期間前後で有意な変化を認めた報告はなく、メタアナリシスでも ACE 阻害薬では、要約平均値 0.85ml/min (の減少) (95%信頼区間-5.6~7.3ml/min) で、ARB では要約平均値-0.80ml/min (95%信頼区間-10.1~8.5ml/min) であった。対象を IgA 腎症に限定して長期間経過観察した RCT は現時点では一編のみで、ACE 阻害薬投与による腎機能保護効果は観察期間 4 年以後で認められたという結果であった。

D. 考察

IgA 腎症患者における ACE 阻害薬お

よび ARB の蛋白尿減少という点での有用性はメタアナリシスからも明らかとなった。しかし、腎不全への進展阻止からみた有用性は長期間経過観察による報告がわずかであり、今後のさらなる検討が必要である。

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

「WKY ラット馬杉腎炎に対するアジュバントの影響」

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

complete adjuvant (CA)を前処置したWKYラットに、ごく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投与した結果、heterologous phaseからの有意な蛋白尿と高頻度の半月体形成を伴う進行性の馬杉腎炎を誘導した。糸球体には顕著なマクロファージの浸潤とTリンパ球の浸潤を認めた。この馬杉腎炎の増悪にはCAによる免疫担当細胞の活性化が何らかの役割を演じていると考えられた。

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免疫担当細胞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、免疫賦活剤である complete adjuvant (CA) 単独をWKYラットに前処置し、微量のラビット抗ラット糸球体基底膜抗血清 (nephrotoxic serum: NTS) による馬杉腎炎への影響について検討した。

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WKYラットと無処置のWKYラットに対し、day 0にNTSを1.25 μ l静注し馬杉腎炎を惹起させ、day 14まで経時的に蛋白尿と腎の組織病変

を検討した。

(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 (CA 群) では有意な蛋白尿が day 2 で出現し、day 14 で平均 196 mg/day と高度となったのに対し、無処置馬杉腎炎群 (コントロール群) では軽微な蛋白尿を認めるのみであった。病理組織学的には、CA 群では、day 4 で糸球体に半月体が出現し、day 14 で半月体形成率は 63 % となった。コントロール群の半月体形成率は day 7 の 13 % をピークに以後減少した。浸潤細胞の検討では、CA 群では、顕著な ED-1 陽性細胞の浸潤と CD3 陽性細胞の浸潤を認めたが、コントロ

ール群では上述の細胞をわずかに認めるのみであった。糸球体内皮細胞マーカーである RECA-1 は、day 2 で両群とも染色性が消失したが、CA 群ではその後の回復が遅れたのに対し、コントロール群では比較的速やかな回復を認めた。

D. 考察

今回の WKY ラットを用いた実験モデルでは、馬杉腎炎の増悪にマクロファージと T リンパ球が強く関与していることが示唆されるが、おそらくこれには CA による免疫担当細胞の活性化が何らかの役割を演じていると考えられる。今後、浸潤細胞のさらなる解析、内皮細胞障害の意義、ケモカインの動態等について検討を進めたい。既に我々は、BN ラットに CA 前処置をすることにより半月体形成を伴う増殖性の馬杉腎炎を誘導することができることを報告した (Mukai K, et al. Clin Exp Nephrol, 2005)。今回のモデルは、BN ラットとは異なりマクロファージのみならず T リンパ球の浸潤も認めており、また病変も進行性であるなど、ラットの系による組織障害機序の差異が示唆され興味深い。CA による免疫担当細胞の活性化の機序としては、CA と免疫担当細胞上の何らかの分子との interaction が推測されるが今後の検討が必要である。

本モデルは感染を契機とした腎炎増悪の機序を解析する上で有用と思われる。

E. 結論

WKY ラットに CA 単独を前処置した後に微量の NTS を投与したところ、高頻度の半月体形成性病変を伴う進行性の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と T リンパ球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

1. 論文発表

Mukai K, Shibata T, Kato K, et al.: Adjuvant-induced macrophage dominant nephrotoxic serum nephritis in rats. Clin Exp Nephrol 9: 15-23, 2005.

2. 学会発表

加藤謙一、柴田孝則、向井一光 他. Complete adjuvant 単独前処理による WKY ラット馬杉腎炎の促進. 第 47 回日本腎臓学会学術総会 (宇都宮、2004. 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

「ステロイド治療を要した小児 IgA 腎症例の中期的予後に関する検討」

研究協力者 服部 元史
東京女子医科大学腎臓小児科・助教授

研究要旨

小児 IgA 腎症に対するステロイド治療の短期的な効果（とくに蛋白尿減少効果）はほぼ確立されている。しかしながら、その長期的予後（成人以降に腎不全に進行する可能性）は不明であるため、今回、小児期に発症してステロイド治療が実施され、そして成人にキャリーオーバーした症例の臨床経過について検討した。その結果、小児 IgA 腎症に対するステロイド治療は短期的には蛋白尿を減少させるものの、ステロイドの減量・中止後の再燃や慢性蓄積性病変に対する継続的フォローの必要性が示唆された。

A. 研究目的

小児 IgA 腎症に対するステロイド治療の短期的な効果（とくに蛋白尿減少効果）はほぼ確立されているが、その中長期的予後は不明である。今回、小児 IgA 腎症に対するステロイド治療の意義をより明らかにする目的で、小児期に発症してステロイド治療が実施され、そして成人にキャリーオーバーした症例の臨床経過について検討した。

B. 研究方法

腎生検にて半月体や癒着などの急性分節性病変を 10%以上の糸球体に認めた症例をステロイド治療の対象とした。

ステロイド治療プロトコールは、プレドニゾン 1mg/kg/日（最高 40mg/

日）を連日 8 週間、その後 4 週毎に 5mg ずつ減量、15mg/日となった時点（治療開始後 24 週）で 30mg 隔日投与として 24 週間継続、その後隔日投与のまま 24 週かけて減量・中止した。上記ステロイド治療を実施した小児 IgA 腎症例のうち、最終観察時の年齢が 20 歳以上に達した 19 例を対象として臨床像や治療効果について検討した。

C. 結果

1) 男女比は 7/12、肉眼的血尿にて発症したのは 1 例のみで他は全て学校検尿にて発見され、発見・発症年齢は平均 11.5 ± 2.3 歳であった。2) ステロイド治療は発見・発症後平均 3.6 ± 2.5 年で開始され、治療開始時平均年齢は 15.1 ± 3.5 歳、そして平均尿蛋白量は

1.8±1.1g/日であった。3) 平均観察期間 10.6±2.7年(7~20年)、最終観察時の平均年齢 25.4±2.7歳(21~29歳)での尿所見は、尿異常なし 2例、蛋白尿のみ陽性 8例、血尿のみ陽性 1例、そして血尿+蛋白尿陽性が 8例であった。なお、この期間中に腎機能が低下した症例は認められなかった。

D. 考察

小児 IgA 腎症に対するステロイド治療の短期的な効果(とくに蛋白尿減少効果)はほぼ確立されている。しかしながら、その長期的予後(成人以降に腎不全に進行する可能性)は不明であるため、今回、小児期に発症してステロイド治療が実施され、そして成人にキャリーオーバーした症例の臨床経過について検討した。その結果、最終観察時の平均年齢 25.4±2.7歳(平均観察期間 10.6±2.7年)での尿所見は、尿異常なし(完全寛解)は 19例中 2例のみで、蛋白尿陽性 8例、血尿陽性 1例、そして血尿+蛋白尿陽性が 8例であった。蛋白尿のみ陽性の 8例では慢性病変の蓄積が、また血尿陽性例の 9例では慢性病変の蓄積に加えて急性炎症の持続が強く示唆されるため、病態に応じた治療(ステロイドや免疫抑制薬の再投与、また扁桃の摘出など)を適切に実施しないと、今後腎不全に進行する危険性が危惧される。

E. 結論

小児 IgA 腎症に対するステロイド治療は短期的には蛋白尿を減少させる

ものの、ステロイドの減量・中止後の再燃や慢性蓄積性病変に対する継続的フォローの必要性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 知的所有権の出現登録状況

該当せず

H. 研究発表

1. 学会発表

中倉兵庫、服部元史、元吉八重子、古江健樹、近本裕子、宮川三平、甲能深雪、山口裕、伊藤克己：ステロイド治療を要した小児期 IgA 腎症例の青年期から成人期にかけての中期的予後、第 27 回 IgA 腎症研究会、2004

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 Fc γ R 遺伝子多型と重症度との関連性」

研究協力者 堀越 哲

順天堂大学腎臓内科 助教授

共同研究者 田中裕一、鈴木祐介、柘植俊直、富野康日己

順天堂大学腎臓内科

研究要旨：

IgA腎症におけるFc gamma receptor (Fc γ R) 遺伝子多型と重症度との関連性の検討：Fc γ Rは、免疫複合体(IC)のクリアランス、炎症性細胞の活性化・サイトカイン産生誘導などを介し免疫応答の調節に重要な役割を担っている。SLEなどではICのクリアランスを介して、その遺伝子多型が自己免疫現象の発症に関連すると考えられている。IgA腎症患者においてもIgGの糸球体への沈着や血中IgA/IgG-ICが観察されるため、Fc γ Rの遺伝子多型と疾患予後との関連が推測される。我々は、IgA腎症患者124名、健常人100名についてIgG親和性に影響するFc γ R (IIa(131RorH), IIIa(176VorF), IIIb(NA1orNA2))の遺伝子多型をPCRにて解析し、IgA腎症の重症度、血清・糸球体IgGについて検討した。IgA腎症患者群において、血清IgG値や糸球体へのIgG沈着の程度に有意な相関は認めなかった。しかし、IgG2との親和性が極めて低いFc γ R IIa-131Rアリルをもつ群と、IgG2との親和性が低い(IgG3とIgG1に親和性が高い) Fc γ R IIIa-176Vアリルをもつ群においては、組織障害度が有意に高かった。このことから、IgA腎症において各Fc γ RによるIgGサブクラスのクリアランスが重症度に関与する可能性が考えられた。今後、症例数の増加と各種パラメーターとの比較など更なる検討が必要と思われる。

A. 研究目的

Fc γ R 遺伝子多型と IgA 腎症の疾患感受性や発症年齢、血清免疫グロブリン値、糸球体メサンギウム領域へのIgG沈着、組織障害度との関連性を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

IgA 腎症群 124 例、健常人 100 例の末梢血液より DNA を抽出し解析に使用した。

遺伝子多型の解析法 には、

- 1) Fc γ RIIa-131R/H は PCR と RFLP 法と
- 2) Fc γ RIIIa-176V/F は Nested PCR と

RFLP 法、3) FcγRIIIb-NA1/NA2 は Allele 特異的 PCR 法を用いた。

血清中の IgG、IgA、IgM の測定には、ELISA 法を用いた。また、統計学的解析は、カイ 2 乗検定、t 検定 で行った。

(研究の倫理面への配慮)

患者および健常者からの DNA サンプルの採取や研究成果の発表については、順天堂大学倫理委員会による承認を受け、個人情報保護に十分配慮することを説明し、同意のもとに行った。

C. 結果

IgA 腎症患者と健常人における遺伝子多型頻度とアレル頻度各々図 1、2 に示した。IgA 腎症患者と健常人の間で FcγR 遺伝子多型の分布には有意な差は認められなかった。また、IgA 腎症患者において FcγR 遺伝子多型と血清 IgG 値やメサングウム領域への IgG 沈着程度には相関は認められなかった(図 3、4)。しかしながら、FcγRIIa において R/R・H/R 群は、H/H 群 に比較して組織障害が有意に高度であった ($P < 0.01$) (図 5)。さらに、FcγRIIIa において V/V 群は、F/F・F/V 群に比較して組織障害が有意に高度であった ($P < 0.04$) (図 6)。

D. 考察

FcγRIIa と FcγRIIIa 遺伝子多型が、IgA 腎症の組織の障害度と有意な相関を認めたことから、FcγR による IgG サブクラスのクリアランスが重症度に関与すること、IgG が FcγRIIa と

FcγRIIIa を介して、IgA 腎症の進展に何らかの役割を担う可能性があることが考えた。

E. 結論

今後も本研究を継続し、症例数の増加と各種パラメーターとの比較を行い、詳細に再検討することが必要と思われる。

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. 学会発表

- 1) Yuichi Tanaka, Yusuke Suzuki, Toshinao Tsuge, Isao Shirato, Satoshi Horikoshi, Renato C. Monteiro, Yasuhiko Tomino. FcγRIIa-131R Allele and FcγRIIIa-176V/V Genotypes Are Risk Factors for Progression of IgA Nephropathy. Annual meeting of International and American Society of Nephrology, 2004.
- 2) 田中裕一、鈴木祐介、柘植俊直、堀越哲、富野康日己: IgA 腎症における Fc gamma receptor(FcγR)遺伝子多型と重症度との関連性. 第 47 回日本腎臓学会総会, 2004.

表1.遺伝子多型頻度

| Genotype | IgA腎症 n=124 | | 健常人 n=100 | | X^2 | P | |
|----------|----------------|-----|--------------|-----|-------|-------|--------|
| | (n) | (%) | (n) | (%) | | | |
| FcyRIIa | 131R/R | 4 | 3.2 | 3 | 3.0 | 1.594 | 0.4507 |
| | 131R/H | 34 | 27.4 | 35 | 35.0 | | |
| | 131H/H | 86 | 69.4 | 62 | 62.0 | | |
| FcyRIIIa | 176F/F | 50 | 40.3 | 54 | 54.0 | 5.944 | 0.0512 |
| | 176V/F | 64 | 51.6 | 35 | 35.0 | | |
| | 176V/V | 10 | 8.1 | 11 | 11.0 | | |
| FcyRIIIb | NA 1/1 | 41 | 33.1 | 37 | 37.0 | 1.486 | 0.4756 |
| | NA 1/2 | 67 | 54.0 | 55 | 55.0 | | |
| | NA 2/2 | 16 | 12.9 | 8 | 8.0 | | |

表2.アليل頻度

| Allele | IgA腎症 n=124 | | 健常人 n=100 | | X^2 | P | |
|----------|----------------|------|--------------|------|-------|-------|--------|
| | (n) | (%) | (n) | (%) | | | |
| FcyRIIa | 131R | 42 | 16.9 | 41 | 20.5 | 1.011 | 0.3146 |
| | 131H | 206 | 83.1 | 159 | 79.5 | | |
| | FcyRIIIa | 164 | 66.1 | 143 | 71.5 | | |
| | 84 | 33.9 | 57 | 28.5 | | | |
| FcyRIIIb | NA1 | 149 | 60.1 | 129 | 64.5 | 0.955 | 0.3284 |
| | NA2 | 99 | 39.9 | 71 | 35.5 | | |

表3.FcγR遺伝子多型と血清免疫グロブリン値との関連性

| Genotype | n | IgG | | IgA | | IgM | |
|-----------------|----|----------------|------|---------------|------------------------|--------------|------|
| FcγRIIa | | | | | | | |
| 131H/H | 77 | 1305.9 ± 277.4 | n.s. | 356.3 ± 98.2 | n.s. | 128.7 ± 52.7 | n.s. |
| 131R/H | 29 | 1265.7 ± 249.0 | | 322.8 ± 104.0 | | 124.8 ± 50.6 | |
| 131R/R | 4 | 1422.8 ± 247.3 | | 308.3 ± 77.1 | | 167.0 ± 50.6 | |
| FcγRIIIa | | | | | | | |
| 176F/F | 44 | 1320.2 ± 270.8 | n.s. | 339.4 ± 95.5 | n.s. | 124.9 ± 48.1 | n.s. |
| 176F/V | 57 | 1290.1 ± 280.1 | | 350.2 ± 105.6 | | 129.2 ± 51.8 | |
| 176V/V | 9 | 1258.2 ± 187.4 | | 348.3 ± 89.6 | | 148.3 ± 73.6 | |
| FcγRIIIb | | | | | | | |
| NA1/1 | 35 | 1250.2 ± 296.9 | n.s. | 327.0 ± 101.8 |] n.s.]] n.s.] * | 131.4 ± 57.7 | n.s. |
| NA1/2 | 61 | 1328.9 ± 237.3 | | 345.6 ± 99.5 | | 133.0 ± 47.9 | |
| NA2/2 | 14 | 1294.8 ± 322.6 | | 393.0 ± 84.9 | | 106.1 ± 53.6 | |

*P = 0.0374

表4.FcγR遺伝子多型とメサンギウム領域へのIgG沈着との関連性

| Genotype | n | intensity | | | X ² | P | |
|--------------------|-------|-----------|----|-----|----------------|--------|--------|
| | | 2~3+ | 1+ | ±,- | | | |
| FcγRIIa | H/H | 47 | 16 | 10 | 21 | 5.864 | 0.2095 |
| | R/H | 15 | 4 | 7 | 4 | | |
| | R/R | 1 | 1 | 0 | 0 | | |
| H/H v.s. H/R & R/R | | | | | 3.427 | 0.1802 | |
| H/H & H/R v.s. R/R | | | | | 2.032 | 0.362 | |
| FcγRIIIa | V/V | 5 | 2 | 1 | 2 | 0.544 | 0.9691 |
| | V/F | 30 | 9 | 8 | 13 | | |
| | F/F | 28 | 10 | 8 | 10 | | |
| V/V v.s. V/F & F/F | | | | | 0.171 | 0.9182 | |
| V/V & V/F v.s. F/F | | | | | 2.724 | 0.2562 | |
| FcγRIIIb | NA1/1 | 19 | 7 | 4 | 8 | 4.989 | 0.2884 |
| | NA1/2 | 39 | 13 | 13 | 13 | | |
| | NA2/2 | 5 | 1 | 0 | 4 | | |
| 1/1 v.s. 1/2 & 2/2 | | | | | 0.495 | 0.7806 | |
| 1/1 & 1/2 v.s. 2/2 | | | | | 3.98 | 0.1387 | |

表5.FcγR遺伝子多型と予後分類との相関(1)

| Genotype | | n | 予後良好群 | 予後比較的 良好群 | 予後比較的 良好群 | 予後不良群 | X ² | P |
|--------------------|--------|----|-------|--------------|--------------|-------|----------------|--------|
| FcγRIIa | 131H/H | 72 | 10 | 26 | 20 | 16 | 7.954 | 0.0470 |
| | 131H/R | 29 | 3 | 4 | 15 | 7 | | |
| | 131R/R | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | | |
| H/H v.s. H/R & R/R | | | | | | | n.s. | n.s. |
| H/H & H/R v.s. R/R | | | | | | | n.s. | n.s. |
| FcγRIIIa | 176V/V | 10 | 0 | 1 | 7 | 2 | n.s. | n.s. |
| | 176V/F | 53 | 8 | 17 | 16 | 12 | | |
| | 176F/F | 40 | 5 | 12 | 13 | 10 | | |
| V/V v.s. V/F & F/F | | | | | | | n.s. | n.s. |
| V/V & V/F v.s. F/F | | | | | | | n.s. | n.s. |
| FcγRIIIb | NA1/1 | 34 | 6 | 11 | 9 | 8 | n.s. | n.s. |
| | NA1/2 | 57 | 6 | 15 | 24 | 12 | | |
| | NA2/2 | 12 | 1 | 4 | 3 | 4 | | |
| 1/1 v.s. 1/2 & 2/2 | | | | | | | n.s. | n.s. |
| 1/1 & 1/2 v.s. 2/2 | | | | | | | n.s. | n.s. |

表6.FcγR遺伝子多型と予後分類との相関(2)

| Genotype | n | 予後良好 | 予後比較的 不良 | X ² | P |
|-----------------|----|------------------|-------------|----------------|--------|
| | | + 予後比較的 良好 | + 予後不良 | | |
| FcγRIIa | | | | | |
| 131H/H | 72 | 36 | 36 | 6.699 | 0.0096 |
| 131H/R & R/R | 31 | 7 | 24 | | |
| FcγRIIIa | | | | | |
| 176V/V | 10 | 1 | 9 | 4.590 | 0.0322 |
| 176V/F & F/F | 93 | 42 | 51 | | |
| FcγRIIIb | | | | | |
| NA1/1 | 34 | 17 | 17 | n.s. | n.s. |
| NA1/2 & 2/2 | 69 | 26 | 43 | | |

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

「カチオン化ゼラチン粒子を用いた siRNA 導入の試み
—HSP47 siRNA 投与による腎間質線維化抑制効果の検討—

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助教授

研究要旨

一側尿管結紮 (UUO) モデルにおいて、コラーゲン特異的シャペロンである HSP47 をターゲットとした siRNA を導入しその発現抑制を試みた。siRNA 導入に際しては、siRNA の長期安定放出が可能であるカチオン化ゼラチン粒子 (CGM) を用いた。HSP47 に対する siRNA を CGM を用いて投与すると、長期間 HSP47 の発現が抑制され、腎間質線維化の進行を抑制することが明らかとなった。CGM を用いた siRNA 投与が腎炎の治療に有効な手段であることが示唆された。

A. 研究目的

RNA 干渉 (RNAi) はターゲット遺伝子の発現を特異的にノックダウンできる有用な手法である。今回、コラーゲン特異的シャペロンである HSP47 siRNA を作成し、マウス一側尿管結紮 (UUO) モデルにおいて、カチオン化ゼラチン粒子 (CGM) を用いた遺伝子導入により腎間質の線維化に対する治療が可能か検討した。

B. 研究方法

HSP47 siRNA を設計し、HSP47 siRNA を含有した CGM (HSP47 siRNA-CGM) を作成した。UUO モデル作成時に尿管より HSP47 siRNA (naked), HSP47 siRNA-CGM をそれぞれ投与し、結紮 7 日、14 日後に腎臓を摘出した。腎間質の線維化の

程度を Masson-Trichrome 染色を用いて、また HSP47, コラーゲンの発現を免疫染色法を用いて検討した。

(研究の倫理面への配慮)

長崎大学動物実験施設の規則に従って施行した。

C. 結果

UUO モデルでは、7 日目、14 日目と時間の経過とともに腎間質の線維化の進行が認められた。また、線維化の進行と比例して、HSP47 発現細胞数や、I, III, IV 型コラーゲンの発現も増加傾向を示した。HSP47 siRNA (naked) 投与群では、7 日目までは有意に間質の線維化、HSP47 陽性細胞数、I, III, IV 型コラーゲンの発現は抑制されたが、

14日目では、HSP47陽性細胞数の増加に伴い、コラーゲン発現の増強、線維化の増悪を認めた。しかし、HSP47siRNA-CGM投与群では、14日目においても、継続してHSP47、コラーゲンの発現は抑制されており、腎間質線維化の進行も有意に抑制されていた。

D. 考察

RNAiは強力に特異的な遺伝子発現抑制する手法として脚光を浴びている。しかし、RNAiの効果発現は最大でも1週間程度であり、長期遺伝子抑制を行うにはsiRNAの頻回投与などが必要であり、投与法の検討が求められている。今回、我々はCGMによる遺伝子導入法を用いた。CGMは、①生体適合性が高いゼラチンが原料である、②正電荷を帯びており、siRNAの分解を抑制する、③徐放期間の調節が可能なたため、長期の遺伝子発現調節が可能であるといった利点があり、今後様々な遺伝子治療への応用が期待されている。我々の検討では、CGMを用いることでsiRNAの作用効果が持続し、siRNAのターゲット分子であるHSP47の発現を長期に渡り有意に抑制することができ、腎間質の線維化を抑制しうることが明らかとなった。

E. 結論

CGMを用いたHSP47siRNA投与は、腎炎に対する遺伝子治療として有効な手段となりうる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 知的所有権の出現登録状況

特になし

H. 研究発表

1. 論文発表

1) Horita Y, Tadokoro M, Taura K, et al.:

Incidental detection of renomedullary interstitial cell tumor in a renal biopsy specimen. *Nephrol Dial Transplant* 19: 1007-1008, 2004

2) Miyazaki K, Miyazaki M, Koji T, et al.:

Renal synthesis of urokinase type-plasminogen activator, its receptor, and plasminogen activator inhibitor-1 in diabetic nephropathy in rats: Modulation by angiotensin-converting-enzyme inhibitor. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 144: 69-77, 2004

3) Kakugawa T, Mukae H, Hayashi T, et al.:

Pirfenidone attenuates expression of HSP47 in murine bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 24: 57-65, 2004

4) 原田孝司、宮崎正信、河野茂：腎障害の評価と診断法 2尿検査 日内誌 93: 866-873, 2004

5) 宮崎正信、河野茂：第2章 IgA腎症の病理・病態生理 病態生理 新しい診断と治療のABC—IgA腎症 最新医学：36-42, 2004

2. 学会発表

1) 小畑陽子、宮崎正信、阿部克成ら；カチオン化ゼラチン粒子を用いたHSP47 siRNA投与による腹膜肥厚抑制効果の検討. 第47回日本腎臓学会学術総会 日腎会誌 46:293,

2004

2) Abe K, Miyazaki M, Yoshio Y, et al.:

Lacking of angiotensin II type 1 receptor in bone marrow derived cells prevents the progression of peritoneal fibrosis (PF).

Peritoneal Dialysis International 24 Sup2: S3, 2004

3) Miyazaki M, Miyazaki M, Abe K, et al.:

Participation of bone marrow derived cells in peritoneal thickening and fibrosis. Peritoneal Dialysis International 24 Sup2: S59, 2004

4) Obata Y, Miyazaki M, Abe K, et al:

Suppression of peritoneal fibrosis by HSP47 siRNA conjugated with cationized gelatin microspheres. J Am Soc Nephrol 15: 17A, 2004

5) Xia Z, Miyazaki M, Abe K, et al: Small

interfering RNA targeting heat shock protein47 (HSP47) ameliorates renal tubulointerstitial fibrosis in unilateral ureteral obstruction. J Am Soc Nephrol 15: 704A, 2004

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 腎症の治療研究」

研究協力者 吉川 徳茂
和歌山県立医科大学小児科教授

研究要旨

巣状メサンギウム増殖小児IgA腎症を対象としたリシノプリル単独療法とリシノプリル+ロサルタンカリウム併用療法の有効性と安全性の多施設共同非盲検ランダム化比較試験を実施するための治療研究実施計画書を作成した。

A. 研究目的

巣状メサンギウム増殖小児IgA腎症を対象とした、多施設によるランダム化対照試験を実施、小児IgA腎症に対する有効な薬物療法を開発し、慢性腎不全への進行を防止することを目的とする。

B. 研究方法

多施設によるランダム化対照試験に必要な治療研究実施計画書等を作成する。

（研究の倫理面への配慮）

各研究施設の倫理委員会の承認を得てから研究を実施する。特に以下の3点に配慮して研究を行う。(1) 研究等の対象となる個人の人権の擁護、

(2) 保護者のみならず可能な限り患者本人にも説明を行い書面にて同意を得る、(3) 患者個人に対し不利益や危険が生じないように努める。

C. 結果

以下の概要の治療研究実施計画書を作成した。

1. 目的

巣状メサンギウム増殖を示すIgA腎症を有する小児患者を対象に、リシノプリル単独療法とリシノプリル+ロサルタンカリウム併用療法との間でランダム化に基づく有効性と安全性の比較検討を行い、研究グループ内での標準治療法の決定を行う。

2. 対象

以下の適格基準を全て満たし、かつ以下の除外基準のいずれにも該当しない患者を、本試験の対象患者とする。

2.1 適格基準

- 1) 登録前4ヵ月以内の腎生検により組織学的にIgA腎症と確定診断された患者
- 2) 登録前4ヵ月以内の腎生検により組織学的に巣状メサンギウム増殖とJ事

務局で確認された患者

3) 登録時早朝尿蛋白/クレアチニン比
0.2 以上を示す患者

4) 発症又は発見年齢が 2 歳以上 15 歳
以下、登録時 18 歳以下の患者

5) 説明同意文書による同意が両親又
は法的保護者から得られた患者

2.2 除外基準

1) 全身性エリテマトーデス、血管性紫
斑病等の全身性疾患を伴う患者

2) リシノプリル、ロサルタンカリウム
の成分に対し過敏症既往歴のある患
者

3) 慢性腎機能障害患者

4) 重篤な肝機能障害(GOT 又は GPT が
測定施設基準値上限の 2.5 倍以上)を
有する患者

5) 本試験開始以前に、副腎皮質ステロ
イド薬、免疫抑制剤、アンジオテン
シン変換酵素阻害薬又はアンジオテ
ンシン II 受容体拮抗薬の治療歴のある
患者

6) ジピリダモール、柴令湯を使用中の
患者

7) 妊娠中、又は試験治療期間中妊娠を
希望する患者

8) その他、研究責任医師又は分担医師
が本試験対象として不相当と判断し
た患者

3. 治療計画

登録された患者は、リシノプリル群
又はリシノプリル+ロサルタン群にラン
ダムに割付けられ、2 年間の試験治
療が行われる。2 年間の試験治療終了
後 2 年間の追跡が行われる。

4. エンドポイント

1) 有効性評価項目

主要評価項目：蛋白尿消失率

副次的評価項目：腎生存期間、ク
レアチニンクリアランス、早朝
尿蛋白/クレアチニン比、慢性腎
不全発生までの期間、腎生検所
見

2) 安全性の評価項目：有害事象発生割 合

5. 目標症例数

110 例(各群：55 例)

D. 考察

巣状メサンギウム増殖を示す小児
IgA 腎症では、発症後 10 年目までに
腎不全に進行する症例は 1%にすぎない
が、発症後 10 年目に血尿、蛋白尿
が持続する症例は 40%あり、持続する
蛋白尿は慢性腎不全の予後不良因子
である。蛋白尿が持続する症例はさら
に長期の検討を行うと腎不全に進行
すると考えられ、巣状メサンギウム増
殖を示す小児 **IgA** 腎症では持続する
蛋白尿に対し効果的な治療が必要で
ある。

成人の **IgA** 腎症を対象としたラン
ダム化比較試験により、アンジオテ
ンシン変換酵素の蛋白尿減少に対する
有効性は証明されているが、アンジオ
テンシン変換酵素阻害薬の腎機能保
持に対する有効性の証明には至って
おらず、さらに長期の検討を必要とし
ている。小児 **IgA** 腎症患者に対するリ
シノプリルの検証データは存在しな
いものの、リシノプリルは小児高血圧
患者に対する有効性と安全性が証明

されている。これにより、わが国では巣状メサンギウム増殖を示す小児IgA腎症の实地医療としてリシノプリルが広く用いられており、治療開始後2年時の蛋白尿消失率は72%(50例中36例)である。

成人のIgA腎症を対象としたランダム化比較試験により、エナラプリルとロサルタンカリウム併用療法が、各単独療法に比較して蛋白尿減少に対する有効性が証明された。IgA腎症を含む小児慢性糸球体腎炎を対象とした観察研究では、ロサルタンカリウムの蛋白尿減少に対する有効性と安全性が報告されている。

本試験では非劣性仮説の検証試験としてではなく、治療法選択試験として設計を行う。2-3年で集積可能な症例数を現実の制約とし、かつ優れた治療法を選択する確率を一定値以上にすることを基本として、従来のランダム化第Ⅱ相試験を修正した方法を採用する。

本試験では、小児難治性腎疾患に対する薬物療法ガイドライン作成のための多施設共同試験と臨床試験体制整備として、巣状メサンギウム増殖を示す小児IgA腎症を対象に、リシノプリル単独療法とリシノプリル+ロサルタンカリウム併用療法との比較試験を行い、研究グループ内での標準治療法の決定を行う。

E. 結論

巣状メサンギウム増殖小児IgA腎症を対象としたリシノプリル単独療法

とリシノプリル+ロサルタンカリウム併用療法の有効性と安全性の多施設共同非盲検ランダム化比較試験を実施するための治療研究実施計画書を作成した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 知的所有権の出現登録状況

該当なし

H. 研究発表

1. 論文発表

1) Sako M, Nakanishi N, Obana M, Yata N, Hoshii S, Takahashi S, Wada N, Takahashi Y, Kaku Y, Satomura K, Ikeda M, Honda M, Iijima K, Yoshikawa N. Analysis of *NPHS1*, *NPHS2*, *ACTN4* and *WT1* in Japanese patients with congenital nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2004: in press.

2) 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

3) Yoshikawa N. Immunoglobulin A Nephropathy. In "Pediatric Nephrology 5th edition" (Ed.) Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, pp 615-628, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2004

4) Fu XJ, Iijima K, Nozu K, Hamahira K, Tanaka R, Oda T, Yoshikawa N, Matsuo M. Role of p38 MAP kinase pathway in a toxin-induced model of hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 19:844-852, 2004

5) Yata N, Nakanishi K, Uemura S, Ishikura K, Hataya H, Ikeda M, Honda M, Yoshikawa N. Evaluation of the inferior vena cava in potential pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol* 19:1062-1064, 2004

American Society of Nephrology, St. Louis, USA, 2004

2. 学会発表

1) Yoshikawa N: Treatment of IgA nephropathy in children. 13th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, Adelaide, Australia, 2004

2) Obana M, Nakanishi K, Sako M, Yata N, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N: Membranous glomerulonephritis in Japanese children. 13th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, Adelaide, Australia, 2004

3) Yata N, Nakanishi K, Sako M, Obana M, Nozu K, Ito Y, Ohashi Y, Yoshikawa N: Effect of the combined therapy on prognosis in Japanese children with IgA nephropathy. 13th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, Adelaide, Australia, 2004

4) Nakanishi K, Honda M, Ikeda M, Hattori S, Sasaki S, Yoshikawa N: Prospective nationwide analysis in Japanese children of the clinical course of primary nephrotic syndrome (NS) during the two-year following initial therapy. 37th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, St. Louis, USA, 2004

5) Obana M, Nakanishi K, Sako M, Yata N, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N: Focal membranous glomerulonephritis in children: Comparison with diffuse membranous glomerulonephritis. 37th Annual Meeting of the

急速進行性糸球体腎炎分科会
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）
急速糸球体腎炎分科会分担研究報告書

「RPGN の診療指針の検証：RPGN 全国アンケート調査結果からの検討」

分担研究者 小山 哲夫

筑波大学大学院人間総合科学研究科臨床医学系腎臓内科 教授

<研究協力者>

有村 義宏 杏林大学医学部第一内科

木田 寛 国立病院機構金沢医療センター内科

二瓶 宏 東京女子医科大学第四内科

槇野 博史 岡山大学大学院医歯学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学

<共同研究者> 山縣邦弘¹、平山浩一¹、高橋秀人²、清水芳男¹、平山暁¹、楊景堯¹、
永瀬宗重¹、間瀬かおり³、山口直人⁴、小林正貴³

(1:筑波大学臨床医学系、2:同社会医学系、3:東京医科大学霞ヶ浦病院腎臓科、
4:茨城県立医療大学)

研究要旨

前研究班において平成元年以降の RPGN 症例をアンケート調査により集積し、当初集積された 715 例を元に「急速進行性腎炎症候群の診療指針」を作成した。この診療指針の再評価と同時に治療法に関する前向き検討を目的に更なる全国調査を行った。

これまでに全国から寄せられた RPGN 症例は 1342 例となった。全症例の 55.5%が MPO-ANCA 陽性であった。全症例における治療開始時の血清クレアチニンは近年有意に低下しており、早期発見の結果、RPGN 全体の腎予後の有意な改善が認められた。また最も症例数の多い、MPO-ANCA 型 RPGN においては、本分科会での全国調査結果を公表以降、治療開始時血清クレアチニンの有意な低下、初期治療における経口ステロイド薬の投与量が有意に減少しており、その結果、死亡原因における感染症は未だ多いものの、生命予後、腎機能予後とも有意な改善を認めていた。

A. 研究目的

平成元年以降の RPGN 症例を全国主要腎疾患診療施設からアンケート調査により集積し、①我が国の RPGN の原疾患分類の検討、②RPGN の予後を検討、③RPGN の診療指針の作成、④診

療指針公表前後の RPGN の予後の比較を行うこと。

B. 研究方法

全国の主要腎疾患診療施設に対し、アンケート調査により、平成元年以降