

蛋白尿が 1g/day 以下に減少しない場合」に難治性ネフローゼ症候群と定義され、ネフローゼ症候群のうち、難治性ネフローゼを呈するものは全体の 10%と報告されている。この難治性ネフローゼ症候群のうち、40%が膜性腎症であり、20%が巣状糸球体硬化症である。この調査は昭和 60 年から平成 5 年に発症した原発性ネフローゼ症候群（膜性腎症 1008 例、巣状糸球体硬化症 278 例）に対してアンケート調査を行い、平成 13 年まで可能な限り追跡調査を行い、腎予後を調べたものである。当時使用できなかった免疫抑制薬で治療が可能となった現在では、実態と異なっている可能性もあり、新たな調査が必要である。

今回 15 年ぶりに日本腎臓学会の腎臓病総合レジストリーを使用して、日本腎臓学会の協力を得て全国でネフローゼ症候群症例を前向きに調査することにより、その実態を把握し、現在の治療の有効性を確認することを目的とする。

## B. 研究方法

日本腎臓学会の腎臓病総合レジストリー/腎生検レジストリーを使用した中央登録による特発性ネフローゼ症候群患者の前向きコホート研究として JNSCS を行った。

### 1) 対象

本試験参加施設で試験開始後に新たに診断された、ネフローゼ症候群診療指針に定める診断基準を満たす原発性ネフローゼ症候群を対象とした。

### 2) 除外基準

- 1) 二次性ネフローゼ症候群（糖尿病性腎症、SLE などの膠原病によるネフローゼ、アミロイドーシス、骨髄腫、血液疾患による腎障害、肝炎ウイルスによる腎障害、ANCA 関連腎炎、HIV 関連腎炎）。
- 2) インフォームドコンセントを得られない患者

### 3) イベントの定義

- (1) 治療効果判定基準  
ステロイド、ステロイド・パルス療法での完全寛解到達率、不完全寛解到達率（1 型、2 型）  
寛解・無効については以下のように定義する。  
完全寛解 尿蛋白の消失  
不完全寛解 1 型 尿蛋白 1g/day 未満 血清アルブミン 3.0g/dl 以上  
不完全寛解 II 型 尿蛋白 1g/day 以上 3.5g/day 未満  
無効 尿蛋白 3.5g/day 以上 血清アルブミン値 3.0g/dl 未満  
再発 完全寛解に至った後、尿蛋白が 1g/day を超えて連続して出現した場合

- (2) ステロイド＋免疫抑制薬療法での完全寛解到達率、不完全寛解到達率（不完全寛解 1 型、2 型）

- (3) 腎機能低下のエンドポイント（血清クレアチニン値の 2 倍化、透析導入、腎移植）

- (4) 死亡

## 4) アウトカム

- (1) 原発性ネフローゼ症候群患者の病理組織別の 1 年、5 年腎生存率、生存率

- (2) 原発性ネフローゼ症候群患者の病理組織別治療反応性（完全寛解、不完全寛解、無効）

- (3) 原発性ネフローゼ症候群患者の合併症

- (4) ステロイド、免疫抑制薬療法による副作用

## 5) 目標症例数

300 例

日本において発症する原発性ネフローゼ症例の可能な限り多数の登録を目指す。

## 6) 登録期間

2009 年 1 月 1 日より、2010 年 12 月 31 日、追跡期間：最終登録後 5 年、2015 年 12 月 31 日、総研究期間：7 年

## 7) 統計解析

上記エンドポイントの推定累積発症率を Kaplan-Meier 曲線によって算出する。また、それぞれのエンドポイントの臨床的予測因子を、Cox 比例ハザードモデル等の生存解析的手法を用いて同定する。上記の統計解析は、STATA、SPSS 等の統計パッケージを用いて行う。

## 8) 登録時、治療開始時、その後継続的に収集するデータ項目

- (1) 患者年齢、(2) 性別 [項目選択]、(3) 病理分類 [項目選択]、(4) 推定罹病期間、(5) 初診日、(6) 身長、(7) 体重、(8) 浮腫の有無、(9) 血圧、(10) 血清総蛋白、(11) 血清アルブミン値、(12) 尿蛋白量、(13) 血尿、(14) 血清クレアチニン値、(15) BUN、(16) ヘモグロビン値、(17) 血清総コレステロール値、(18) LDL コレステロール値、(19) HDL コレステロール、(20) 中性脂肪 (21) HbA1c の 21 項目である。記載は 2 週間前後のアロワンスを認める。

### (倫理面への配慮)

本研究は「観察研究」に当たるが、腎生検標本を使用する症例が多いため、その実施においては各施設の施設長の承認が必要であり、そのためには、倫理委員会又は IRB (Internal Review Board, 機関審査委員会) による承認を必要とする。本研究は日本腎臓学会の倫理委員会承認された。

本研究は、治療介入を一切行わない「観察研究」であるが、前向き研究であり、腎生検標本を使用するため、患者への研究に関する説明と患者の自由意思による、腎臓病総合レジストリーへの参加の確認（インフォームドコンセント）と本研究への参加の確認（インフォームドコンセント）が必要である。腎臓学会の倫理委員会で JKDR と JNSCS の一括同意を得ることが承認されれば、同意に関しては一括同意も可能である。

腎臓学会ホームページ上でも、(1) 研究が実施されていること、(2) 研究への参加施設を公開する。また、患者には腎臓学会および各施設のホームページ上で、(1) 本研究が実施されていること、(2) 本研究への参加施設が公開されている。

### 個人情報の取り扱いについて

登録時に連結可能な患者識別番号を、各施設で決定して付与し、腎臓病総合レジストリー（JKDR）に記入する。今回 JNSCS データセンターに収集される情報には、第三者が直接、患者を同定できるものは含まれておらず、匿名化される。

## C. 研究結果

### 1) 登録時のベースラインデータ

57施設より登録された396名の一次性ネフローゼ症候群を解析対象とした。微小変化型ネフローゼ症候群（165例（41.6%））と膜性腎症（158例（39.9%））の頻度が高く、次に頻度が高かったのが巣状分節性糸球体硬化症（38例（9.6%））であり、上記三疾患が全体の90%以上を占めた（表1）。全疾患のうち、副腎皮質ステロイド薬あるいは免疫抑制薬が投与された症例が359例（90.7%）であった。諸外国と比較して、免疫抑制療法の投与率が非常に高い事も JNSCS の特徴である（表1）。

表1 JNSCS 登録患者の病理型別分類

原疾患別のステロイド・免疫抑制薬の投与率

FSGSとして登録されていたAlport症候群1例が除外されたため、2012年末時点における登録症例数は396例です。

原疾患	全体 人(%)	ステロイド・免疫抑制薬	
		有 人(%)	無 人(%)
微小変化型ネフローゼ症候群 (MCNS)	165 (41.6)	162 (98.2)	3 (1.8)
膜性腎症 (MN)	158 (39.9)	136 (86.1)	22 (13.9)
巣状分節性糸球体硬化症 (FSGS)	38 (9.6)	35 (92.1)	3 (7.9)
IgA腎症	15 (3.8)	12 (80.0)	3 (20.0)
膜性増殖性糸球体腎炎(I型、III型)	9 (2.3)	7 (77.8)	2 (22.2)
メサンギウム増殖性糸球体腎炎(非IgA腎症)	7 (1.8)	4 (57.1)	3 (42.9)
半月体形成性糸球体腎炎	2 (0.5)	1 (50.0)	1 (50.0)
管内増殖性糸球体腎炎	2 (0.5)	2 (100.0)	0 (0.0)
合計	396 (100.0)	359 (90.7)	37 (9.3)

中央値 (25% - 75%)

血圧はほとんどが正常範囲にあり、腎機能も正常範囲のものが多かった（表2a-b）。しかしながら、FSGSにおいては、腎機能が中央値でCr 1.17

mg/dL とやや低下していた。尿蛋白は、微小変化型ネフローゼ症候群 5.8g/day、膜性腎症 4.6g/day、巣状分節性糸球体硬化症 7.7g/day と膜性腎症で少ない傾向にあった。

表2a 免疫抑制療法開始時（あるいは腎生検時）

ベースライン所見	ベースライン時の所見				
	MCNS 165人	MN 158人	FSGS 38人	その他 39人	欠損値 人(%)
ステロイド・免疫抑制薬の開始時 (人(%))	162 (98.2)	136 (86.1)	35 (92.1)	28 (74.3)	9 (25.7)
腎生検時 (人(%))	3 (1.8)	22 (13.9)	3 (7.9)	9 (25.7)	
年齢 (歳)	42 (26-61)	66 (59-75)	62 (28-73)	58 (45-71)	0 (0.0)
男性 (人(%))	95 (57.6)	85 (53.8)	25 (65.8)	20 (51.7)	0 (0.0)
浮腫 (人(%))	153 (92.7)	132 (85.2)	36 (94.7)	25 (71.4)	3 (0.8)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.9±4.3	23.6±3.6	23.4±3.8	23.0±3.5	12 (3.0)
収縮期血圧 (mmHg)	120±16	128±19	134±17	135±11	8 (2.0)
拡張期血圧 (mmHg)	73±11	75±13	80±13	78±11	8 (2.0)
Cr (mg/dL)	0.87 (0.68-1.20)	0.86 (0.70-1.14)	1.17 (0.93-1.74)	1.06 (0.79-1.65)	0 (0.0)
BUN (mg/dL)	15 (11-26)	15 (12-18)	23 (16-31)	15 (11-23)	0 (0.0)
TP (g/dL)	4.4±0.7	4.9±0.8	4.5±0.8	5.3±0.7	4 (1.0)
Alb (g/dL)	1.7±0.6	2.1±0.6	1.9±0.7	2.5±0.4	2 (0.5)
総コレステロール (mg/dL)	405±121	307±100	355±124	287±78	55 (13.9)
LDLコレステロール (mg/dL)	271±103	191±86	256±111	187±64	119 (30.0)
HDLコレステロール (mg/dL)	75±27	63±23	61±20	98±25	132 (33.2)
中性脂肪 (mg/dL)	194 (145-277)	186 (128-263)	224 (152-304)	147 (114-238)	83 (20.9)
HbA1c (%)	5.5±1.3	5.4±0.5	5.5±1.0	5.3±0.5	155 (39.0)
Hb (g/dL)	14.2±2.0	12.5±2.0	13.1±2.1	11.7±2.4	14 (3.5)

平均±SD、中央値 (25%-75%)

表2b 免疫抑制療法開始時（あるいは腎生検時）

ベースライン所見	ベースライン時の所見				
	MCNS 165人	MN 158人	FSGS 38人	その他 39人	欠損値 人(%)
ステロイド・免疫抑制薬の開始時 (人(%))	162 (98.2)	136 (86.1)	35 (92.1)	26 (74.3)	9 (25.7)
腎生検時 (人(%))	3 (1.8)	22 (13.9)	3 (7.9)	9 (25.7)	
原疾患別					
原血圧定性					
- (%)	44 (27.7)	24 (15.3)	5 (13.2)	4 (11.4)	7 (1.8)
± (%)	30 (18.9)	14 (8.9)	4 (10.5)	4 (11.4)	
1+ (%)	26 (16.4)	43 (27.4)	9 (23.7)	3 (8.6)	
2+ (%)	41 (25.8)	51 (32.5)	14 (36.8)	6 (17.1)	
3+ (%)	16 (10.1)	25 (15.9)	6 (15.8)	18 (51.4)	
4+ (%)	2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
原蛋白定性					
- (%)	2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (1.5)
± (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
1+ (%)	3 (1.9)	9 (5.7)	0 (0.0)	1 (2.9)	
2+ (%)	5 (3.1)	19 (12.1)	2 (5.3)	4 (11.4)	
3+ (%)	71 (44.4)	83 (52.9)	16 (42.1)	20 (57.1)	
4+ (%)	79 (48.4)	46 (29.3)	20 (52.6)	10 (28.6)	
1日尿蛋白 (g/日)	6.3 (4.2-10.0)	4.8 (3.0-6.4)	6.0 (4.2-8.8)	5.1 (3.1-6.9)	89 (22.4)
尿蛋白/Cr比	7.5 (5.1-11.0)	5.1 (3.4-9.6)	6.8 (4.3-10.6)	5.8 (5.0-8.3)	55 (13.9)
1日尿蛋白 (or 尿蛋白/Cr比)	7.1 (4.5-10.3)	4.8 (3.1-6.4)	6.0 (4.2-8.8)	5.1 (3.5-7.8)	0 (0.0)

平均±SD、中央値 (25%-75%)

初期治療として免疫抑制療法開始後1ヶ月以内に投与された薬剤は、微小変化型ネフローゼ症候群、膜性腎症、巣状分節性糸球体硬化症、その他の疾患において、経口プレドニゾロンが98%、86%、92%、74%であった。疾患を問わず、静注メチルプレドニゾロンが約20%で投与されていた。一方、シクロスポリン投与率は、微小変化型ネフローゼ症候群で低く（15%）、膜性腎症および巣状分節性糸球体硬化症（39%、40%）で高かった（表3）。

表3 免疫抑制療法開始後1ヶ月以内の副腎皮質ステロイド薬および免疫抑制薬

## ベースライン後1ヶ月以内のステロイド・免疫抑制薬

ベースライン所見	MCNS 165人	MN 158人	FSGS 39人	その他 35人	欠損値 (人%)
ステロイド・免疫抑制薬の開始時(人%)	162(98.2)	136(86.1)	35(92.1)	26(74.3)	
腎生検時(人%)	3(1.8)	22(13.9)	3(7.9)	9(25.7)	
経口プレドニゾン(人%)	162(98.2)	136(86.1)	35(92.1)	26(74.3)	2(0.5)
静注メチルプレドニゾン(人%)	47(28.5)	25(15.9)	10(26.3)	13(37.1)	2(0.5)
経口シクロホスファミド(人%)	1(0.6)	2(1.3)	0(0.0)	1(2.9)	2(0.5)
静注シクロホスファミド(人%)	0(0.0)	4(2.6)	0(0.0)	2(5.7)	2(0.5)
シクロスポリン(人%)	24(14.5)	61(38.9)	15(39.5)	6(17.1)	2(0.5)
ミノリン(人%)	3(1.8)	10(6.4)	0(0.0)	1(2.9)	2(0.5)
タクロリムス(人%)	1(0.6)	1(0.6)	0(0.0)	0(0.0)	2(0.5)
セルセプト(人%)	1(0.6)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(0.5)
リツキサン(人%)	3(1.8)	0(0.0)	1(2.6)	0(0.0)	2(0.5)

### 2) 尿蛋白の寛解率について

平成25年度は、観察期間中央値28ヶ月(範囲0.2-55.5ヶ月)の時点までの解析を完了しデータ確定とした。

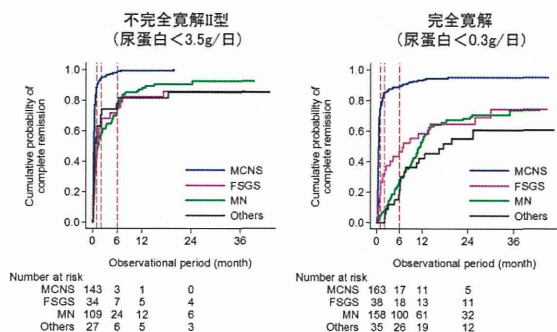
微小変化型ネフローゼ症候群は、1か月以内に75%、2か月以内に85%が完全寛解に至った(図1)。6か月では89%が完全寛解するが、1年経っても7%程度は完全寛解しない。膜性腎症で2か月以内に完全寛解に至るのはわずか8%であった。6か月で27%であり、1年でも53%にすぎなかった。FSGSは、完全寛解に至るのが、1か月21%、2か月32%、6か月46%であった。1年後に58%が完全寛解に至り、膜性腎症よりも速やかに完全寛解に至るが、1年後にほぼ同程度の寛解率に至る事が示された。

不完全寛解I型(UP<1.0g/日)に至った症例は、微小変化型ネフローゼ症候群では、1か月で80.9%、2か月で87.8%、6か月で94.9%、12か月で97.4%であった。膜性腎症では、1か月で14.0%、2か月で24.3%、6か月で46.6%、12か月で70.1%であった。巣状分節性糸球体硬化症では、1か月で31.6%、2か月で50.0%、6か月で63.1%、12か月で69.2%であった。

### 図1 累積不完全寛解率II型および完全寛解率

アウトカム: 不完全寛解II型・完全寛解

観察期間 中央値28.0ヶ月(四分位22.8-36.0) [範囲0.2-55.5]



不完全寛解II型(UP<3.5g/日)に至った症例は、微小変化型ネフローゼ症候群では、1か月で88.8%、2か月で94.4%、6か月で97.9%、12か

月で99.3%であった。膜性腎症では、1か月で43.5%、2か月で56.7%、6か月で74.2%、12か月で87.1%であった。巣状分節性糸球体硬化症では、1か月で47.1%、2か月で61.8%、6か月で75.2%、12か月で82.3%であった。

### 3) 中央値28か月時点でのアウトカム

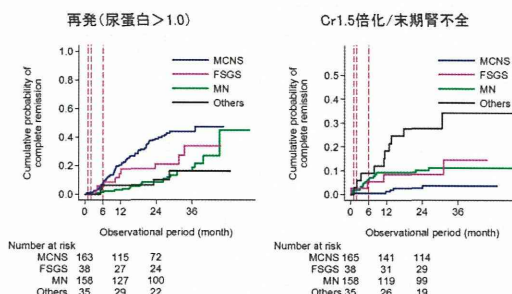
完全寛解に至った症例における $\geq 1g/日$ の尿蛋白の再発率は、免疫抑制療法開始後3年の時点で、微小変化型ネフローゼ症候群は44%、膜性腎症で16%、巣状分節性糸球体硬化症で34%であった(図2)。いずれの疾患においても、完全寛解後に再発する症例が多数存在する事が示された。

血清クレアチニンの1.5倍化が、微小変化型ネフローゼ症候群で5例(3%)、膜性腎症で15例(10%)、巣状分節性糸球体硬化症で4例(11%)、その他で10例(29%)認められた(図2)。

### 図2 完全寛解後の累積再発率および血清クレアチニン1.5倍化率

アウトカム: 再発(尿蛋白>1.0)とCr1.5倍化

観察期間 中央値28.0ヶ月(四分位22.8-36.0) [範囲0.2-55.5]



微小変化型ネフローゼ症候群において7例(4.2%)の死亡が認められ、そのうち6例は感染症による死亡であった。膜性腎症において8例(5%)の死亡例のうち4例が悪性腫瘍、3例が感染症で死亡していた。ほとんどの患者で免疫抑制療法が行われている微小変化型ネフローゼ症候群において、感染症死を予防する事が重要である事が示唆された(表4)。

微小変化型ネフローゼ症候群において7例(4.2%)の死亡が認められ、そのうち6例は感染症による死亡であった。膜性腎症において8例(5%)の死亡例のうち4例が悪性腫瘍、3例が感染症で死亡していた。ほとんどの患者で免疫抑制療法が行われている微小変化型ネフローゼ症候群において、感染症死を予防する事が重要である事が示唆された(表4)。

### 表4 死亡等のその他のアウトカム

## アウトカム: その他

アウトカム	対象症例 (人)	MCNS 165人	MN 158人	FSGS 37人	その他 35人
不完全寛解型(尿蛋白<3.5) (人/%)	ベースライン尿蛋白≧3.5 (313)	143 (100.0)	94 (86.2)	28 (82.4)	23 (85.2)
不完全寛解型(尿蛋白<1.0) (人/%)	ベースライン尿蛋白≧1.0 (398)	157 (96.9)	109 (70.8)	27 (71.1)	24 (70.8)
完全寛解(尿蛋白<0.3) (人/%)	ベースライン尿蛋白≧0.3 (394)	154 (94.5)	96 (60.8)	25 (65.8)	19 (54.3)
再発(尿蛋白>1.0) (人/%)	ベースライン尿蛋白≧0.3 (395)	62 (38.0)	21 (13.3)	9 (23.7)	4 (11.4)
Cr1.5倍化/末期腎不全 (人/%)	(396)	5 (3.0)	15 (9.5)	4 (10.5)	10 (28.6)
Cr2倍化/末期腎不全 (人/%)	(396)	3 (1.8)	9 (5.7)	2 (5.3)	9 (25.7)
末期腎不全 (人/%)	(396)	1 (0.8)	2 (1.3)	1 (2.6)	5 (14.3)
死亡 (人/%)	(396)	7 (4.2)	8 (5.1)	1 (2.6)	0 (0.0)
感染症		6	3	1	0
悪性腫瘍		0	4	0	0
入院加療を要する感染症 (人/%)	(396)	8 (4.9)	9 (5.7)	3 (7.9)	2 (5.7)
入院加療を要する動脈硬化症 (人/%)	(396)	2 (1.2)	2 (1.3)	1 (2.6)	0 (0.0)
入院加療を要する心疾患 (人/%)	(396)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
入院加療を要する脳血管疾患 (人/%)	(396)	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
入院加療を要する末梢血管疾患 (人/%)	(396)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
糖尿病に対する新規投薬加療 (人/%)	ベースライン抗糖尿病薬無し(378)	23 (14.7)	35 (23.5)	9 (24.3)	3 (9.4)
無菌性骨壊死の診断 (人/%)	(396)	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
消化性潰瘍の診断 (人/%)	(396)	0 (0.0)	1 (0.6)	1 (2.6)	0 (0.0)
悪性腫瘍の診断 (人/%)	(396)	4 (2.4)	5 (3.2)	1 (2.6)	0 (0.0)

平成 25 年度は、微小変化型ネフローゼ症候群の感染症死について解析を加えた。全体では 6/165 (3.6%) の死亡率であったが、65 歳以上に限ると 5/39 (12.8%)、70 歳以上だと 4/29 (13.8%) と微小変化群の高齢者では死亡の危険性が大きく上昇することが判明した。

平成 25 年度は、さらに以下の解析を行った。

### 4) 免疫抑制療法抵抗性を判定するのに適切な時期を同定するための解析

ステロイド抵抗性は本邦の診療指針での定義を含め、いくつか提示されているが、統計学的な解析によって導き出されたエビデンスに基づいていない。また上記の定義の診断精度は不明である。今回、免疫抑制療法抵抗性を判定するのに適切な時期を同定するため、JNSCS に登録された一次性ネフローゼ症候群患者のうち、免疫抑制薬を使用し、治療開始時に尿蛋白が 3.5g/日以上あり、糖尿病治療薬が投与されていない症例 281 例(微小変化型ネフローゼ症候群 134 例、膜性腎症 98 例、巣状分節性糸球体硬化症 30 例、その他 19 例)を解析対象とした。

アウトカムは不完全寛解 II 型 (尿蛋白 3.5g/日未満) とし、経過中の累積寛解率を算出した(表 5)。免疫抑制療法開始後 1 年時におけるネフローゼ症候群レベルの尿蛋白の持続率は微小変化型ネフローゼ症候群で 0%、膜性腎症および巣状分節性糸球体硬化症で 15%であった。不完全寛解 II 型の累積発生率を図 6 に示す。

続いて、中央値で 28 か月が経過した時点で不完全寛解 II 型に至った症例 261 例 (92.9%) を母集団とする解析を行った。累積寛解率は、図 3 の累積寛解率の () 内に記載した。不完全寛解 II 型に至るのに要した時間は図 4 に示した。

具体的には、90%の症例が不完全寛解 II 型に至るのに要する期間は、微小変化型ネフローゼ症候群で 29 日、膜性腎症で 207 日、巣状分節性糸球体硬化症で 66 日であった。また、95%の症例が不完

全寛解 II 型に至るのに要する期間は、微小変化型ネフローゼ症候群で 59 日、膜性腎症で 242 日、巣状分節性糸球体硬化症で 207 日であった。

## D. 考察

JNSCS には当初の目標 300 例を上回る 396 例が登録された。JNSCS は微小変化型ネフローゼ症候群の前向きコホートとしては世界最大、膜性腎症のコホートとしては国内最大である。

JNSCS は、わが国のネフローゼ症候群の病理型別の寛解率を初めて示した。病理型ごとに治療反応性は異なり、従来の報告と同じように、微小変

不完全寛解II型(尿蛋白<3.5)の累積発症率

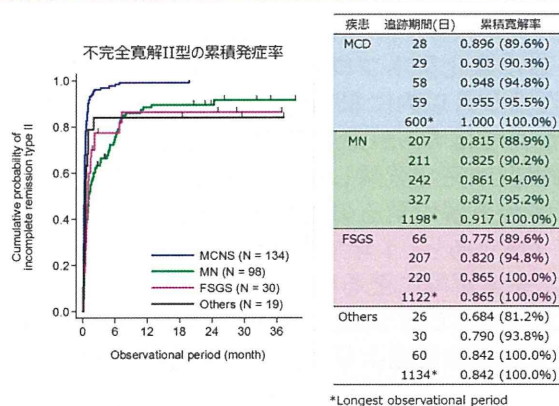
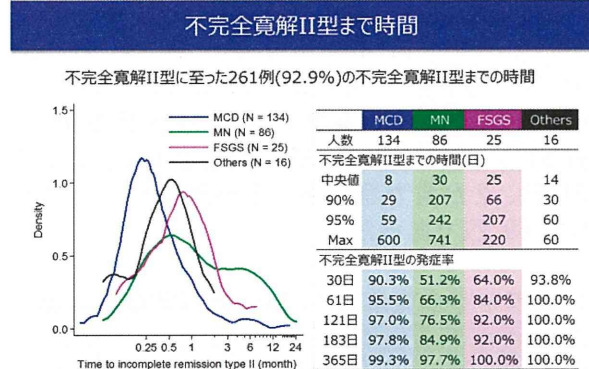


図 4 病型別の不完全寛解 II 型までの時間



化型ネフローゼ症候群の多くの症例が 1 か月以内に治療に反応し、75%が完全寛解に至った。

しかし、膜性腎症と巣状分節性糸球体硬化症の早期の治療反応性は低く、1 か月で完全寛解に至るのは膜性腎症 5%、巣状分節性糸球体硬化症 21%であった。これまでの報告と異なり、巣状分節性糸球体硬化症は 2 ヶ月以内の早期に反応する症例が 32%もあることが分かった。

難治性ネフローゼ症候群の定義である 6 か月で 1 日尿蛋白が 1g 未満である不完全寛解 I 型および完全寛解に至る患者は、微小変化型ネフローゼ症候群、膜性腎症、巣状分節性糸球体硬化症で、それぞれ 95%、47%、63%であった。微小変化型ネフ

ローゼ症候群はほとんどの症例が治療に反応した。しかし、膜性腎症は50%しか反応せず、50%は難治性ネフローゼ症候群と定義された。巣状分節性糸球体硬化症の6か月の寛解率はこれまで明らかではなかったが、63%が治療に反応し、難治性ネフローゼ症候群の定義に相当する症例が膜性腎症腎症よりも少ないことが示された。

微小変化型は、最終的に97%が完全寛解に至ったが、約半数の症例で再発が認められた。また感染症による死亡率が高く、感染症および再発を抑制する治療戦略の構築が必要であると考えられる。

膜性腎症の完全寛解は、1年で70%、2年で78%であった。Plancoらの報告では、ACE阻害薬以外は投与しない膜性腎症患者（平均尿蛋白量7.4g/day (3.5-32.6)）で、観察期間平均14.7か月で完全寛解に至るのは15%であり（JASN 2010）、治療を受けたJNSCSの患者と比較して寛解率ははるかに低い。わが国は、膜性腎症に対して多くの症例で直ちに副腎皮質ステロイド単独、またはシクロスポリン併用による治療が行われるが、その有効性が示唆される。ただし、わが国のMN患者の尿蛋白が平均4.5g/dayと少ないことも原因である可能性がある。腎機能が低下した患者は、膜性腎症、巣状分節性糸球体硬化症、その他の疾患で多く、50%以上血清Cr値が上昇した患者は、10%、11%、29%おり、膜性腎症は予後が悪い疾患であることが確認された。

平成25年度には、治療に反応するまでの期間を病型別に解析した。現在、本邦の診療指針ではネフローゼ症候群の治療抵抗性は原疾患に関わらず一律に定義されている。今回の解析結果からは、免疫抑制療法抵抗性に関してはネフローゼ症候群の原疾患別に診断する時期が異なるべきと言える。また、どの程度の累積寛解率（90%あるいは95%）を用いるべきかはその目的（免疫抑制治療からの撤退あるいは他の積極的治療への切り替え）によって異なるものとする。

## E. 結論

JNSCSには396例のネフローゼ症候群患者が登録され、中央値28ヶ月の追跡が行われた。この結果、微小変化型ネフローゼ症候群は1か月以内に完全寛解に至る症例が多いが、再発率も高いことが確認された。特に高齢者においては、感染症に伴う死亡が少ないことが確認された。膜性腎症は治療に反応するのに時間がかかり、6ヶ月では47%しか寛解しなかったが、1年後においても70%しか寛解しなかった。FSGSは海外においては難治性であるといわれるが、わが国では1年で69%が完全寛解に至り、治療反応性は比較的良好であった。

原疾患により治療に反応する期間が異なることから、現在一律である治療抵抗性の定義の見直しが必要であると考えられた。

## 2. 我が国における特発性膜性腎症患者における抗ホスホリパーゼA2受容体(PLA2R)自己抗体の保有率と膜性腎症モデルマウスの構築

### A. 研究目的

特発性膜性腎症の原因は不明であったが、2009年にSalantらにより、ポドサイトに発現するホスホリパーゼA2受容体(PLA2R)を抗原として、産生されるIgG4自己抗体が主要な原因であることが報告された(Beck et al. 2009)。

抗PLA2R抗体が特発性膜性腎症のバイオマーカーとして使用できる環境を創るとともに、膜性腎症の病態を解明するために以下の検討を行った。

1. 日本の特発性膜性腎症での陽性率決定。
2. ヒトPLA2Rトランスジェニックマウスによる膜性腎症モデルマウスの構築。

### B. 研究方法

抗hPLA2R自己抗体を検出するために用いるリコンビナントhPLA2R(rhPLA2R)の調製法として、大腸菌発現系、Wheat germ cell-free recombinant protein synthesis system(小麦発現系)、ヒト培養細胞発現系(HEK293細胞)を宿主として、これまでの予備実験において、エピトープが存在すると推察されているシグナルペプチドC末端以降から第4Lectin Cドメインまでに相当するrhPLA2R(21-663aa)および細胞外ドメイン全長に相当するrhPLA2R(21-1397aa)をHistag融合タンパク質として発現させた結果、患者血清に対する抗原性が最も高かったHEK293細胞を用いて発現させたrhPLA2R(21-1397aa)を陽性率調査用抗原として用いた。

ヒト糸球体ライセートおよびrhPLA2R(21-1397aa)-Histagを抗原として用いたWestern blot systemを構築し、I-MN、S-MN、その他腎症患者、および健常人の血漿を用いて、抗hPLA2R自己抗体の検出を試みた。なお、I-MN患者の血漿は名古屋大学附属病院および金沢医科大学付属病院で集められた合計134名分の検体を用いた。

二次抗体として各IgGサブクラス特異的マウスモノクローナル抗体を用いたWestern blot systemおよびELISA systemを構築し、I-MN患者の抗PLA2R抗体サブクラスについて調べた。

酵素処理による脱糖鎖処理および未処理の PLA2R、ならびに、DTT による脱ジスルフィド結合処理および未処理の PLA2R を抗原とした Western blot system により、ジスルフィド結合に支持された立体エピトープに対する患者由来抗 PLA2R 抗体の結合性について調べた。

新規膜性腎症モデルマウスを確立する目的で、BL6 系マウスにヒト PLA2R cDNA、IRES 配列および GFP cDNA を Nephin promoter でポドサイト特異的にヒト PLA2R を発現させたトランスジェニック (TG) マウスを作製し、糸球体において hPLA2R または GFP が特異的に発現している本 Tg マウスを選抜しながら継代した。

### C. 研究結果

ヒト糸球体ライセートを抗原として、ヒト IgG1~4 の Fc 共通領域に対するマウスモノクローナル抗体を二次抗体として用いた Western blot 解析により求めた I-MN 患者における抗 PLA2R IgG 陽性率は 50% (n=134) であった。また、HEK293 細胞にて調製した rhPLA2R (21-1397aa)-Histag を抗原として用いた場合の抗 PLA2R IgG 陽性率は 51% (n=134) だった。さらに、尿蛋白量 3.5g/day 以上の患者のみで見ると陽性率は 52.4% であった。

一方、抗原の違いに基づく検出感度の差異が殆ど認められなかった。HEK293 細胞による細胞外ドメイン全長 PLA2R の発現は生産効率に難があるものの、先行技術である小麦発現系で調製したリコンビナント hPLA2R を用いた結果 (約 25%) よりも検出感度の著しい向上を達成した。日本人特発性膜性腎症患者の抗 PLA2R 抗体の IgG サブクラスは、IgG4 が主要サブクラスであった。

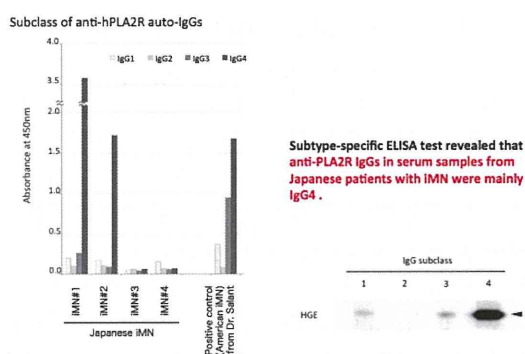
**図 5 患者血清中の抗 PLA2R 抗体保有率**  
Prevalence and characteristics of anti-PLA2R IgG in Japanese patients with idiopathic MN

日本の特発性膜性腎症患者における抗 PLA2R 抗体陽性率は、諸外国に比べて低いことが明らかになった。

Country	Study	Assay	Cases (n)	Anti-PLA <sub>2</sub> R-Positive CASES (%)	"Enhanced" positivity (%) (Proteinuria > 3.5 g/day)
USA*	Beck (2009)	WB	37	70%	70%
France*	Debiec (2011)	WB	42	57%	81%
Netherlands*	Hofstra (2011)	WB	18	78%	78%
China*	Qin (2011)	WB	60	87%	98%
Germany*	Hoxha (2011)	IFT	100	52%	65%
Korea**	Oh (2013)	WB	100	69%	-
<b>Japan</b>		<b>WB</b>	<b>122</b>	<b>50.8%</b>	<b>52.4%</b>

\*Modified from Martas, Ravani, and Ghiggeri (2011) *Nephrol Dial Transplant* 26: 2428-30.  
\*\*Oh, Y. J., S. H. Yang, et al. (2013). *PLoS one* 8(4): e62151.

**図 6 抗 PLA2R 抗体の主要 IgG サブクラス**



Subtype-specific ELISA test revealed that anti-PLA2R IgGs in serum samples from Japanese patients with IMN were mainly IgG4.

PLA2R の患者抗体に対する抗原性に及ぼす PLA2R の糖鎖修飾および立体構造について検討した結果、日本人特発性膜性腎症患者由来抗 PLA2R 抗体は、PLA2R の糖鎖を認識せず、PLA2R の立体エピトープを認識していた。

**図 7 PLA2R の糖鎖修飾および立体構造が抗原性に及ぼす影響**

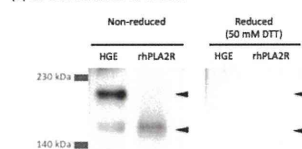
Characteristics of anti-PLA2R auto-IgG in Japanese patients with IMN

(1) Protein glycosylation of hPLA2R



N-glycosylation of hPLA2R is not necessary to interaction with anti-PLA2R auto-IgGs from Japanese patients with IMN.

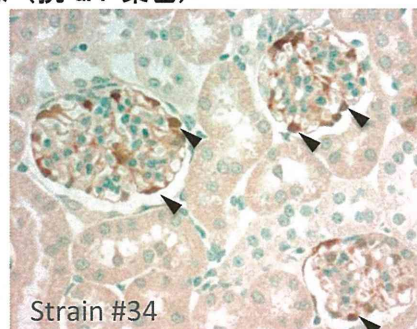
(2) 3D conformation of hPLA2R



3D-conformation of PLA2R protein is essential to interaction with anti-hPLA2R auto-IgGs from Japanese patients with IMN.

hPLA2R トランスジェニックマウスの構築に成功し、現在、第三世代を維持している。テールサンプルを用いた genomic PCR によって Transgene の組込みが確認された個体を選抜して、それらから片腎摘して調製した糸球体ライセートに、ヒト PLA2R タンパク質が含まれることを Western blot により確認した。腎臓切片に対する抗 GFP 抗体の免疫蛍光染色では糸球体ポドサイト特異的に GFP が発現していることを確認した。

**図 8 hPLA2R トランスジェニックマウスの糸球体 IF 像 (抗 GFP 染色)**



## D. 考察

本研究は、アジア地域で100名超の規模で特発性膜性腎症患者の抗PLA2R自己抗体保有率を調査した初めての研究である。本研究の結果、日本人特発性膜性腎症患者の抗PLA2R自己抗体保有率は、51% (n=134)、尿蛋白量3.5g/day以上の患者のみに絞って再計算しても52.4%であった。

一方、これまでに明らかにされた海外での特発性膜性腎症患者の抗PLA2R抗体保有率は、国や測定方法によって多少の差異が認められている。すなわち、HKK293細胞で調製したhPLA2Rを抗原にしてウエスタンブロット法で調査したアメリカ、オランダ、スウェーデン、中国の同保有率は各々70~75%、80%、80%、80%だった。一方、PLA2Rを発現させたHEK293細胞に直接患者血清を作用させて間接蛍光抗体法に準じて検出したドイツの同保有率は52%だった。これらの結果から、日本人特発性膜性腎症患者の抗PLA2R自己抗体保有率は、ドイツでの調査結果と近似して、世界的に見て低い傾向を示すことが明らかとなった。しかしながら、測定方法によっても同保有率は大きく変わることから、同保有率を国際比較するには同一の測定方法で測定する必要性が強く示唆された。

抗PLA2R抗体の分子特性は、日本人患者と海外症例との間に差異は認められず、日本人患者においてもIgG4が主要サブクラスで、PLA2Rの糖鎖を認識せず、ジスルフィド結合に担保された立体エピトープを認識していた。

本研究で作成に成功したヒトPLA2Rトランスジェニックマウスは、糸球体特異的にヒトPLA2Rを発現しており、特発性膜性腎症の病態形成機序に対するhPLA2R-抗hPLA2R自己抗体の役割を明らかにするための有力なツールとして期待される。

## E. 結論

本研究では、世界に先駆けて我が国における抗PLA2R自己抗体の保有率および分子特性を明らかにすることに成功した。我が国の特発性膜性腎症患者の抗PLA2R自己抗体保有率は諸外国の先行調査結果よりも低いことが明らかになった。併せて、ヒトPLA2Rをポドサイト特異的に発現するトランスジェニックマウスの作成に成功し、特発性膜性腎症の病態形成機序の解明に向けた基盤ツールの整備を進めることができた。

今後は、抗PLA2R自己抗体測定プロトコルの世界標準化の推進に加えて、PLA2R以外の未知抗原の同定を含めた、特発性膜性腎症の病態機序の解明の必要性が示唆された。

## 3. 膜性腎症関連遺伝子の探索

### A. 研究目的

膜性腎症は、成人のネフローゼの原因として最も多い疾患である。最近、phospholipase A2 (PLA2) 受容体に対する抗体がその病因であることが報告された(Beck et al. 2009)。また、Genome wide association study (GWAS)によりPLA2受容体およびHLA-DQA1のsingle nucleolar polymorphism (SNP)が白人において疾患の発症と関連することが示され(Stanescu et al. 2011)、PLA2受容体のSNPをターゲットとした韓国、台湾の研究では、白人とは異なるPLA2受容体のSNPが疾患と関連することが報告されている(Liu et al 2010、Kim et al 2011)。

本研究では日本人におけるPLA2受容体およびHLAのSNPと膜性腎症の関連を調べ、本邦における疾患関連SNPを明らかにするとともに、名古屋大学で立ち上げているPLA2受容体抗体のELISAを利用して、SNPと抗体の関連を検討する。

膜性腎症の有病率を考慮し、目標症例数を達成するため多施設で検体収集を行う。末梢血からのDNAを抽出し、遺伝子解析は国立遺伝学研究所で行った。

### B. 研究方法

#### 1) 対象者

本研究に参加する施設に入院または通院中の膜性腎症患者で、文書による同意を得た者。20歳以上および90歳未満を対象とし、急性疾患合併例や意思の疎通が困難な患者は除く。目標患者数は膜性腎症患者150名、対照群として文書による同意を得た90歳未満の非膜性腎症である成人150名とする。

#### 2) 実施施設

研究参加者から末梢血の提供を受ける。各施設では採取した血液4mlのうち2mlから血清を分離し、残りの末梢血全血2mlからgenome DNAを抽出し、国立遺伝学研究所に送付し保存する。国立遺伝学研究所・人類遺伝研究部門・井ノ上研究室において、SNP解析あるいはゲノムシーケンス解析を行う。血清は名古屋大学で保存し、PLA2受容体抗体の測定を行う。

#### 3) 対象とする試料(資料)と入手方法

血液より抽出したDNAおよび血清: 血液2mlからDNAを抽出し、更に2mlから血清を採取する。原則として通常の検査目的の静脈採血と同時に採取する。国立遺伝学研究所・人類遺伝研究部門で遺伝子多型(SNPs)および全シーケンス解析を

行う。血清は名古屋大学で立ち上げている ELISA による PLA2 受容体抗体を測定に使用する。

臨床情報として患者の診療録から年齢、性別、尿蛋白量、腎機能、重症度分類などを用いる。

#### 4) 解析方法

DNA 抽出は DNA PrecisionSystem、QIASymphony により行う。この方法により末梢血全血 2ml より約 2・g の genomeDNA が抽出される。本研究では PLA2 受容体遺伝子、HLA-DQ、DR 抗原遺伝子の下記の SNP を対象として解析を行なう (a, b 参照)。PLA2 受容体遺伝子解析には TaqMan 法を用い、サンプルの一部を抽出して Direct Sequence を行い、TaqMan 法の結果が正しいことを確認する。HLA 遺伝子解析は全ゲノムシーケンスをにより行う。

- a) PLA2 受容体遺伝子: rs4664308 (Stanescu et al. 2011)、rs35771982 (Liu et al 2010、Kim et al 2011)
- b) HLA-DQ、DR 抗原遺伝子: 白人患者において疾患関連性が高いことが報告された rs4664308 周辺を中心に SNP 解析を行う。また、日本人膜性腎症患者では HLA-DR15 の関与が報告されていることから (Ogahara et al. 1992)、HLA-DR15 に関連した tagSNPs の解析を行なう。

50 症例の DNA を収集した時点で一次解析を開始する。同時に検体収取を進める。一次解析の結果により SNP 解析部位の追加を予定しており、最終的に約 30 の SNP を解析する予定である。統計にはカイ 2 乗検定を用いる。

#### (倫理面への配慮)

本研究への参加は対象者 (代諾者) の自由意思により決定され、同意しない場合においても治療内容も含めいかなる不利益を被ることもない。個人情報保護のため、検体および臨床情報は個人情報分担管理者が連結可能匿名化する。すなわち、検体および臨床情報から個人を識別できる情報 (氏名、住所、生年月日、電話番号など) を削除し、独自の記号を付したのち、核酸が施設で厳重に管理する。試料 (DNA) は各施設で冷凍保存され、解析時には国立遺伝研究所に送付する。臨床情報と解析結果は施設内の外部から切り離されたコンピューター内に保存される。同意はいつでも撤回できることを保証し、同意撤回時には本人の検体、臨床情報、遺伝情報全て匿名化されたまま廃棄され、個人情報分担管理者が保存している対照表から除かれる。また、本研究終了時には、試料および情報を長期保存して将来の新たな遺伝子解析を含む研究に使用することに同意している場合を除き、全ての試料と情報は廃棄される。得られた成果は学会や論文に発表されるが、個人

情報がでることではない。本研究では以上の方法で対象者の人権の擁護を行う。

添付した「研究への協力のお願い」と題する説明文書を本人に渡し、これをもとに、研究の目的、提供していただく試料、試料の採取方法、試料の使用法、試料の管理と保管、試料提供に伴う利益・不利益、自由意思による同意と同意撤回の自由、研究への参加を断っても診療上の不利益は受けないこと、プライバシーの保護、個人の解析結果は原則的に開示しないこと、倫理性の審査、研究に関わる費用、研究結果の公開、知的財産権、質問の自由、に関して説明し十分納得されたことを確認した後に同意を得る。承諾をいただいた方に同意書 2 通に自著の署名をいただき、一通は本人に渡し、一通は診療録で管理する。

本研究では採血は通常の検査および治療目的の範囲を越えず、それによって患者が大きな不利益が生じることはない。対照群となる参加者には通常の採血時のリスク (皮下出血等) が生じる可能性がある。遺伝子解析結果が外部に漏れた場合は将来、様々な不利益を被る可能性がある。これを防ぐためプライバシーと人権の擁護には (1) で述べた方法で最大限の配慮を行う。

#### C. 研究結果

平成 25 年度末時点での参加施設は、昭和大学 (藤が丘病院、北部病院)、新潟大学医学部、名古屋大学医学部附属病院の 3 施設である。上記 3 施設では遺伝子解析研究に関して、倫理委員会の承認を得ている。平成 25 年度は 3 施設合わせて特発性膜性腎症 92 症例の検体集と DNA 抽出を完了した。一次解析開始目標数の 50 症例を確保したため、DNA 検体を国立遺伝研究所に送付し解析を開始した。

罹患者 92 サンプルで HLA-DQA1 の遺伝子配列解析 (シーケンシング) を行った。その結果、1,346 の SNV が認められ、そのうち 73 は新規変異であった。これら新規変異のうち、6 カ所は 92 サンプルで 10%以上の頻度を有していた。

続いて欧米の報告で検出された膜性腎症と関連する rs2187668 とその近傍の SNP による関連解析を行った。日本人集団を用いた case-control study では同部位に有意差は認められなかった。

#### E. 考察

膜性腎症関連遺伝子の解析を行う体制が確立された。HLA-DQA1 遺伝子の一次解析では本邦の膜性腎症患者では、高い相関を有する、有意な SNP は検出されなかった。今後症例数を増やし、さらなる解析を進める予定である。



#### 4. 特発性膜性腎症に対する大量ガンマグロブリン療法 (HIGHNESS)

##### A. 目的

膜性腎症は、中高年者においてネフローゼ症候群を呈する疾患の中で、約 40%と最も頻度が高い重要な疾患である。わが国における本症の予後は、欧米のそれに比較して良好と報告されるが、この一因には尿蛋白が平均 4-5g/日と比較的少なく、ステロイド単独投与により寛解に至る軽症例も少なくないことによると推察される。また、膜性腎症は約 30%が自然寛解するため、尿蛋白が比較的少ない場合にはそのまま経過を見ることもある。

静注免疫グロブリン (IVIg) の感染症治療および予防効果は、ネフローゼ症候群においても血清 IgG レベルを 600mg/dL 以上に保つことによる感染予防が報告されている。

今回の試験では、以下のことを検討することを目的とする。

1. ガンマグロブリンが膜性腎症患者の寛解導入に有効かどうかを検討する。
2. 安全性および感染症発症抑制効果も検討する。
3. 経過観察群で、自然寛解の比率を把握する。

##### B. 方法

###### 1) 対象

外来通院もしくは入院中の腎生検により診断された特発性膜性腎症患者

###### 2) 選択基準

腎生検にて 1 次性 (特発性) 膜性腎症と診断された患者 (電顕標本がある方が望ましい)

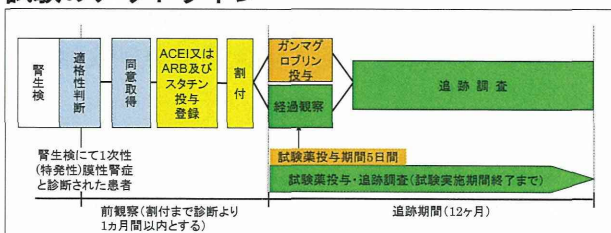
- ①ネフローゼ症候群の診断基準を満たすこと
- ②原則、レニン・アンジオテンシン系抑制薬 (ACEI/ARB など) およびスタチンなどの腎保護療法を受けていること
- ③30 歳以上 90 歳未満

###### 4) 試験デザイン

多施設共同非盲検無作為化比較試験

###### 5) 試験方法

###### 試験のアウトライン



###### 6) 試験参加期間

前観察期間：割付まで診断より 1 ヶ月間以内とする。

試験薬投与期間：5日間

観察期間：6か月間

追跡期間：12か月

###### 7) 割付方法

腎生検で特発性膜性腎症と診断し、選択・除外基準を満たした患者から、インフォームドコンセントを取得後、原則、ACEI または ARB およびスタチンを投与しエントリーする。中央にてランダムに割り付けを行う。なお、割り付けは年齢 (65 歳未満, 以上), 性別, eGFR (50mL/min/1.73 m<sup>2</sup> 未満, 以上), 尿蛋白量 (3.5g/日以上 5g/日未満, 5g/日以上), 施設を割付調整因子とした最小化法による。

###### 8) 投与量および投与方法

ガンマグロブリンが入った点滴を 5 日間連続で治療する。ガンマグロブリンは献血ベニロンを 10 g/日点滴する。

###### 9) 併用療法・併用禁止療法

###### 1) 併用薬

ACE 阻害薬・降圧利尿薬などの降圧薬, スタチン (試験期間中, 可能な限り用法・用量を変更せずに使用)

###### 2) 併用禁止薬および禁止療法

他の免疫グロブリン製剤, 副腎皮質ステロイド, 免疫抑制薬

###### 10) 評価指標とその定義

###### ①主要評価指標

1) 一次アウトカム: 完全寛解, および不完全寛解 I 型導入率 寛解・無効については以下のように定義する。

完全寛解	尿蛋白 0.3g/日未満
不完全寛解 I 型	尿蛋白 0.3g/日以上, 1g/日未満
不完全寛解 II 型	尿蛋白 1g/日以上 3.5g/日未満
無効	尿蛋白 3.5g/日以上

###### ②副次的評価指標

###### 1) 副次的評価項目

- (1) 尿蛋白量
- (2) 腎機能
- (3) 原疾患悪化, 感染症あるいは心血管病合併等による入院
- (4) 感染症罹患
- (5) 経過観察群の自然寛解率

###### 11) 観察・検査・調査項目および実施時期

###### ①被験者背景

年齢, 性別, BMI, 血圧値, 腎移植の種別 (献腎, 生体), 原疾患, 合併症, 既往歴

## ②試験期間中の観察・検査・調査

- a) レニン・アンジオテンシン系阻害薬投与状況
- b) スタチン投与状況
- c) 糖尿病, 脂質異常症, 高血圧治療状況
- d) 血圧, BMI
- e) 尿検査
- f) 血液検査

## 12) 後観察

必要に応じて, 追跡調査期間終了後の血圧, BMI, 尿検査, 血液検査を実施する。

## 13) 併用薬・併用療法

同意取得前1ヶ月から後観察終了までに使用した薬剤および療法の内容・併用期間・併用理由を調査し, 症例報告書に記載する。

## 14) 解析計画

計画に従い, 症例データの統計解析を行う。

### ①主解析

FAS を対象とし, 対照群である経過観察群に対して, 試験治療群であるガンマグロブリン療法群が, 初回の完全寛解または不完全寛解I型導入までに要する期間を短縮すること(優越性)を検証する。中間解析および最終解析において解析を行うものとし, 解析方法の詳細は別途作成する統計解析計画書にて定める。

### ②副次的解析

副次的解析として以下の解析を行う。

- 1) 尿蛋白変化率。
- 2) 腎機能の変化
- 3) 原疾患悪化, 感染症あるいは心血管病合併等による入院
- 4) 感染症罹患
- 5) プラセボ群の自然寛解率
- 6) その他安全性の評価

### 11. 2. 3 中間解析

症例登録期間中に1回の中間解析を行い, 試験を続けることが妥当かどうかを判断する。中間解析は, 70例(予定登録症例数の70%)の症例が登録された時点以降に行う最初の定期モニタリングのデータを用いて実施する。

### 11. 2. 4 最終解析

追跡期間終了後, データ固定が完了した後に全ての評価指標に対する解析を行う。それ以外の時期は, プロトコールに記載した場合もしくは効果安全性評価委員会の許可を得た場合を除き, 解析は行わない。

## 12. 目標症例数

全国100例(各群50例)とする。

## 13. 試験実施期間

登録期間: 2011年11月1日から2014年3月31日まで

研究期間: 2011年11月1日から2015年3月31日まで

## 14. 倫理原則の遵守

本試験は, ヘルシンキ宣言に基づいた倫理原則を遵守し, 「臨床研究に関する倫理指針(厚生労働省告示)」に従って実施する。また, 「医薬品の臨床試験の実施に関する基準(GCP)」を尊重する。

## 15. 臨床研究倫理審査

### 15. 1 臨床試験実施の審査

本試験は, 各施設の倫理審査委員会(IRB: Institutional Review Board)にて, 実施計画書, 症例報告書, 患者への同意説明文書の記載内容および試験実施の適否に関して倫理的, 科学的, 医学的妥当性の観点から審査を行い, 承認を得た後に実施する。

### 15. 2 臨床試験継続の審査

本試験を継続するために年に1回の頻度で試験の現状を倫理審査委員会へ報告し, 継続の可否について審査を受ける。また, 試験の継続に関して倫理審査委員会にて再検討が必要であると考えられる情報を得た場合, および実施計画書の改訂を行う場合においても倫理審査委員会へ報告し, 継続の審査を受ける。

## 16. 患者の同意

施設責任(担当)医師は, 患者が臨床研究に参加する前に倫理審査委員会で承認された同意説明文および同意文書を手渡し, 以下の説明事項に示す内容について十分説明し, 患者がその内容を理解したことを確認した上で, 臨床研究参加について自由意思による同意を患者本人から文書にて取得する。

## 17. 患者の費用負担

本試験では, 試験薬剤(ガンマグロブリン)を無償で提供するため, 費用は被験者の負担とはならない。その他は, 保険で認められている薬剤と投与量で行われ, 実施する検査もすべて日常診療の範囲内であることから, 通常通りの保険診療とする。

## 18. 健康被害補償

特別な補償は行われない。通常の診療を受けた際に発生した健康被害や医療事故と同じ扱いになる。本試験により重篤な有害事象が発現した場合には, 通常診療の範囲で最善の治療を保険診療で行う。なお, 本試験の試験薬剤(ガンマグロブ

リン)は、医薬品副作用救済制度による救済給付申請の対象とならない。

試験に参加する医師は、賠償責任に備え医師賠償責任保険に加入しておく(なお、病院での賠償保険加入は、それぞれの施設での対応とする)。なお、試験治療に用いる製剤に関する措置として、製造元の企業はPL保険に加入する。

## 19. 記録ならびに資料の保管

施設責任医師は、保管すべき文書を、本研究成果の総括報告書の完成、または論文等に公表された日のうち最も遅い日から5年間保管する。

本研究で収集し、名古屋大学で保管される抗PLA2R抗体測定用の血清試料は、原則として研究終了後に試料番号を消去した後に破棄する。ただし、患者の同意が得られた場合にはさらに匿名化が十分保たれた状態で名古屋大学大学院医学系研究科腎臓内科学にて将来の研究のために保管される。この場合、研究計画書を金沢大学倫理委員会に提出し、承認を得た後に研究を開始する。

## 20. 機密保持および個人情報保護

患者の登録、症例報告書における被験者の特定は識別コードで行うとともに、試験の実施に関する原データ類および患者の同意書等の直接閲覧、並びに研究成果の公表においては、患者のプライバシー保護に十分配慮する。本試験で得られた各患者の個人情報は、第三者へ漏洩してはならない。

## C. 結果

2012年1月より症例登録受付を開始した。平成24年度に、症例選択基準の見直しを行った。尿蛋白が多い症例を排除する必要はないとの判断から、尿蛋白量8g/日未満という基準を撤廃し、尿蛋白3.5g/日以上のみとした。2013年3月末時点での登録は4症例であった。さらに、平成25年度には4例が登録され、これまでに計8例の登録が完了している。しかし、症例登録数が予定に到達しないため、現在のプロトコールでの研究完遂は困難と判断し、平成25年8月には新規症例登録を休止した。登録済の症例の経過観察は継続中である。

## D. 考察

特発性膜性腎症に対する大量ガンマグロブリン製剤の有効性を検証するための臨床研究に対し、8例の症例登録が完了し経過観察中である。当初のプロトコールで症例登録が進まなかった原因は、保存的治療による自然経過が不明であるため保存的治療に対する不安、高齢化に伴い基礎疾患が多く二次性膜性腎症を完全に除外することが困難であることなどが考えられた。8症例の追跡期間終了後、結果を解析し、新規プロトコール

を再検討する予定である。

「進行性腎障害に関する調査研究」難治性ネフローゼ症候群分科会  
1次性膜性腎症に対するIVIg治療(HIGHNESS試験)

### HIGHNESS 試験進捗状況の月次通知2014.1.1

本試験全体における登録症例数 8例

各施設の登録症例数は、以下のとおりです。

金沢医科大学 2例 (前回登録数 1例)  
名古屋大学医学部附属病院 1例 (前回登録数 0例)  
公益財団法人田附興風会 北野病院 1例 (前回登録数 1例)  
国立病院機構 北海道医療センター 1例 (前回登録数 1例)  
筑波大学 1例 (前回登録数 1例)  
山形大学医学部附属病院 0例 (前回登録数 0例)  
九州大学病院 0例 (前回登録数 0例)  
福岡大学医学部 0例 (前回登録数 0例)  
東京女子医科大学 1例 (前回登録数 0例)  
昭和大学医学部 0例 (前回登録数 0例)  
聖マリアンナ医科大学 0例 (前回登録数 0例)  
長崎大学病院 0例 (前回登録数 0例)  
宮崎大学病院 1例 (前回登録数 0例)

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Sugiyama H, Yokoyama H, Sato H, Saito T, Kohda Y, Nishi S, Tsuruya K, Kiyomoto H, Iida H, Sasaki T, Higuchi M, Hattori M, Oka K, Kagami S, Kawamura T, Takeda T, Hataya H, Fukasawa Y, Fukatsu A, Morozumi K, Yoshikawa N, Shimizu A, Kitamura H, Yuzawa Y, Matsuo S, Kiyohara Y, Joh K, Nagata M, Taguchi T, Makino H; Committee for Standardization of Renal Pathological Diagnosis; Committee for Kidney Disease Registry; Japanese Society of Nephrology. Japan Renal Biopsy Registry and Japan Kidney Disease Registry: Committee Report for 2009 and 2010. Clin Exp Nephrol. 2013; 17(2):155-73.
- 2) 横山仁: 高齢者ネフローゼ症候群 日本内科学会雑誌 102: 1172-1179, 2013.
- 3) 杉山斉, 佐藤博, 上田善彦, 横山仁: 腎疾患の疫学(レジストリーから) 日本内科学会雑誌 102: 1183-1191, 2013.
- 4) 横山仁: ネフローゼ症候群の疫学 内科 112: 649-654, 2013.

### 2. 学会発表

- 1) 日本腎臓学会学術総会・委員会報告: 杉山 斉, 佐藤 博, 上田善彦, 横山 仁: 腎臓病総合レジストリー(J-RBR/J-KDR)の2012年次報告と経過報告. 第56回日本腎臓学会学術総会, (東京, 2013. 5), 日本腎臓学会誌, 55: 272, 2013.
- 2) 日本腎臓学会学術総会・教育講演: 横山 仁: 臨床試験の実際, 第56回日本腎臓学会学術総会, (東京, 2013. 5), 日本腎臓学会誌, 55: 289, 2013.
- 3) 日本腎臓学会西部学術大会・教育講演: 横山 仁: 高齢者腎臓病: ネフローゼ症候群を中心に. 第43回日本腎臓学会西部学術大会, (松山,

2013. 10), 日本腎臓学会誌, 55 : 1172, 2013.

## 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

## 5. 巣状分節性糸球体硬化症における可溶性ウロキナーゼ受容体の意義に関する研究

### A. 研究目的

原発性ネフローゼ症候群患者において、その病型診断・病勢評価における可溶性ウロキナーゼ受容体(soluble urokinase receptor: suPAR)濃度測定の有用性を検討し、臨床応用の可能性について検討する。

### B. 研究方法

各研究参加施設(8施設)においてネフローゼ症候群及び腎炎症候群と診断された患者から採取された血清を用い、東京大学腎臓・内分泌内科において血清 suPAR 濃度を ELISA キット「Quantikine ELISA human uPAR immunoassay」(R&D Systems 社)を用いて測定した。対象患者の病理組織診断情報により患者を疾患毎に分類し、血清 suPAR 濃度の診断予測能を検討した。

また、臨床データ(推定発症日・診断日・年齢・性別・尿蛋白定性・尿蛋白定量(24時間蓄尿データまたはクレアチニン補正)・尿潜血・尿沈渣所見・血清アルブミン・血清総コレステロールまたは LDL コレステロール・血清尿素窒素・血清クレアチニン)との相関等を統計的に評価することにより、血清マーカーとしての有用性と限界について評価を行った。

#### (倫理面への配慮)

説明文書を本人または代諾者に渡し、これをもとに、研究の目的・提供して頂く試料、試料の採取方法、試料の使用法、試料の管理と保管、試料提供に伴う利益・不利益、自由意思による同意と同意撤回の自由、研究への参加を断っても診療上の不利益は受けないこと、プライバシーの保護、個人の解析結果の開示、倫理性的審査、研究に関わる費用、研究結果の公開、に関して説明し、十分な理解を得られた後に研究参加に同意する場合には同意書に自筆署名を得る形式をもって書面で同意を得た。また各研究参加施設において連結可能匿名化された試料が東京大学腎臓・内分泌内科に送付され、切り離された個人情報各研究参加施設において厳重に管理されている。以上の事項については、東京大学医学部倫理委員会にお

いて審査され承認(承認日:平成24年3月19日審査番号3735)されており、また、各研究参加施設においても倫理委員会の承認が得られている。

### C. 研究結果

計8施設計96名の患者・健常者から得られた検体の測定を行ったが、このうち原発性の腎炎・ネフローゼ患者69名と健常者17名を検討対象とした。原疾患の内訳は巣状分節性糸球体硬化症(focal segmental glomerulosclerosis: FSGS)38名・微小変化群(minimal change disease: MCD)11名・IgA腎症(IgA nephropathy: IgAN)11名(活動性IgA腎症5名を含む)・膜性腎症(membranous nephropathy: MN)9名であった。

以上の検体の血清 suPAR 濃度を測定し疾患別に集計した結果、FSGS:  $3119.0 \pm 1036.6$  pg/mL・MCD:  $2374.9 \pm 588.8$  pg/mL・IgAN:  $2311.3 \pm 777.1$  pg/mL・MN:  $3311.9 \pm 655.3$  pg/mL・健常対照者:  $1745.1 \pm 395.4$  pg/mLであった。FSGS患者血清とMN患者血清は健常対照者血清に比べて有意に血清 suPAR 濃度が高値を示したが、他のネフローゼ・腎炎症候群の原疾患と比較すると有意差は得られていない。また健常対照者を除く全疾患群での検討では、血清 suPAR 濃度と年齢の間に弱いながらも有意な相関( $R^2=0.1496$ ,  $p=0.001$ )推算糸球体濾過量(estimated glomerular filtration rate: eGFR)との間には優位な逆相関関係が認められた( $R^2=0.242$ ,  $p<0.0001$ )。

重回帰分析においては腎機能を反映する血清クレアチニン濃度が唯一の血清 suPAR 濃度の有意な予測因子であった( $\beta \pm \text{SEM}=0.226 \pm 0.226$ ,  $p=0.047$ )。以上の結果から、腎機能が血清 suPAR 濃度に影響している可能性が想定されたため、正常腎機能( $eGFR > 60$  mL/min/1.73m<sup>2</sup>)の対象者由来の検体のみを用いたサブ解析を行ったところ、上記4疾患の間で血清 suPAR 濃度には全く差が認められなかった。

次に、日常臨床においては発症様式や臨床像が類似するFSGSとMCDの鑑別が重要でありかつ困難であることから、この2疾患の鑑別における血清 suPAR 濃度の有用性を検討する目的でROC曲線を用いて解析を行った。正常腎機能のFSGS血清16検体とMCD血清9検体のsuPAR濃度で検討を行ったところ、カットオフ値としては2442.5 pg/mLが最適であったが、この値を用いて両疾患を鑑別する場合の感度は0.750、特異度は0.666であった。AUC-ROCは $0.684 \pm 0.114$ (95%信頼区間; 0.461-0.907,  $p=0.13$ )であり、以上の結果より血清 suPAR 濃度は両者の鑑別に関して臨床的に有用であるとは判断されなかった。ネフローゼ症候

群を呈する症例に限った場合でも、最適カットオフ値は 1748.8 pg/mL であり、この値を用いた場合感度は 0.909 であるが特異度は 0.375 と低値であった。AUC-ROC は  $0.642 \pm 0.130$  (95%信頼区間; 0.438-0.896,  $p=0.30$ ) に留まった。一方、FSGS と他の糸球体疾患 (MCD を含む) との鑑別に関しては、最適カットオフ値が 2442.5 pg/mL であったが、感度 0.750, 特異度 0.591 とやはり臨床的には不十分なレベルと考えられ、AUC-ROC は  $0.621 \pm 0.093$  (95%信頼区間; 0.438-0.803,  $p=0.21$ ) であった。

また、ステロイド・免疫抑制薬による治療が血清 suPAR 濃度に及ぼす影響を検討する目的で、ステロイド・免疫抑制薬投与の有無と血清 suPAR 濃度の関係について横断的解析を行った。腎機能が正常である全糸球体疾患患者を対象とすると、投与群  $2559.3 \pm 789.2$  pg/mL, 非投与群  $3047.0 \pm 994.9$  pg/mL で統計学的有意差には至らなかったが ( $p < 0.06$ ) FSGS 患者に限定すると投与群  $2170.0 \pm 533.7$  pg/mL, 非投与群  $3076.9 \pm 498.5$  pg/mL であり、投与群で有意に低値であった ( $p=0.009$ )。

最後に、以上のコホートとは別に、ANCA 関連腎炎患者血清における suPAR 濃度の検討を行った。検体数は 5 検体であったが、 $6791.3 \pm 1513.0$  pg/mL と高値を示した。上記結果から年齢と腎機能をマッチさせた原発性糸球体疾患患者血清と比較したところ、後者は  $3727.5 \pm 818.2$  pg/mL であり、ANCA 関連腎炎で有意に高値であった (Mann-Whitney U test,  $p=0.01$ )。

#### D. 考察

日本人原発性糸球体疾患患者を対象とした本研究で見出されたことは以下の点である。

- (1) 血清 suPAR 濃度は年齢との正相関・腎機能との逆相関を示す。
- (2)  $eGFR > 60$  mL/分/1.73m<sup>2</sup> の患者を対象とすると、日本人原発性糸球体疾患患者においては、血清 suPAR 濃度に有意な差は認められず、FSGS と MCD あるいは MCD を含む他の糸球体疾患とを鑑別する際に有用とは言えない
- (3) ステロイド・免疫抑制薬投与中の FSGS 患者では投与されていない患者に比べて血清 suPAR 濃度は低値を示したが、一方で病勢とは直接の関連が認められなかった
- (4) ANCA 関連腎炎患者血清では suPAR 濃度が著明高値を示し、年齢・腎機能の他に炎症の影響が示唆された。

Wei らの既報によると FSGS 患者血清における suPAR 濃度は他糸球体疾患患者血清と比較して明らかに高い群が存在しているが、同報告では腎機能が考慮されておらず、腎機能が低下している患

者のデータが影響を及ぼした可能性があると考えられる。同グループから続報として報告されたヨーロッパや北米のコホート研究からのデータにおいては腎機能が有意な予測因子であることが記載されており、他のグループからも腎機能と suPAR 濃度が逆相関することが相次いで報告されている。臨床的に、原発性糸球体疾患を診断する際には患者の多くは正常腎機能を有しているため、本研究では  $eGFR > 60$  mL/分/1.73m<sup>2</sup> である患者を対象としたサブ解析を行った。この結果、FSGS を含む各疾患間で血清 suPAR 濃度に統計学的有意差が認められず、ROC 解析を用いて検討した結果でも suPAR の診断マーカーとしての有用性は確認できなかった。

ステロイド・免疫抑制薬投与と血清 suPAR との関係については、全糸球体疾患・FSGS 患者双方ともに投与群で血清 suPAR 濃度が低値を示す傾向があり、FSGS 患者のみを対象とした検討では統計学的に有意な差が認められたが、一方で病勢を示す尿蛋白量は両群でまったく差が認められなかった。このことから、suPAR 濃度の変化は必ずしもステロイド・免疫抑制薬による病態の改善とは関連しないものと考えられた。

最後に、ANCA 関連腎炎患者血清では年齢と腎機能をマッチさせた原発性糸球体疾患患者血清と比較しても有意に高値であったが、過去の報告により血清 suPAR 濃度は炎症状態により非特異的に上昇することが示されており、ANCA 関連腎炎における炎症状態が影響したと考えられた。

本研究においては統計学的に十分な検出力を有しているものの、対象患者・検体数は比較的少数であり、例えば FSGS の組織亜型間での血清 suPAR 濃度の差を検討するには不十分であった。また、腎生検の組織診断は各施設における病理医によるものであって標準化された診断ではなく、多少の誤差を生む可能性は否定できない。また測定系に関しては、これまで同種の臨床研究において世界中で使用されてきた市販の ELISA キットを使用した。このシステムはあらゆる形態の suPAR を認識している。仮に FSGS の病態に特異的な構造・形態の suPAR が存在するようであれば、それを特異的に検出する系が必要となろう。研究デザインについては、本研究は一時点における横断研究であり、suPAR 濃度の変化と臨床経過の関係については検討できていない。今後、縦断研究により、腎炎・ネフローゼ症候群の経過と suPAR 濃度との関係について明らかになることが期待される。

以上のように、本研究の結果からは、FSGS の診断マーカーとして血清 suPAR 濃度が臨床的に応用

できる可能性は残念ながら否定的であった。今後の研究の発展により、新たなバイオマーカーが発見され、臨床の場に応用されることを期待したい。

## E. 結論

本研究の検討結果より、血清 suPAR 濃度は年齢・腎機能・炎症によって影響を受けることが見出され、特に腎疾患患者における解釈には腎機能低下を考慮する必要があると考えられた。また、血清 suPAR 濃度は FSGS と MCD を含む他の糸球体疾患を鑑別する際に有用なマーカーとは言えない。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Wada T, Nangaku M, Maruyama S, Imai E, Shoji K, Kato S, Endo T, Muso E, Kamata K, Yokoyama H, Fujimoto K, Obata Y, Nishino T, Kato H, Uchida S, Sasatomi Y, Saito T, Matsuo S. A multicenter cross-sectional study of circulating soluble urokinase receptor in Japanese patients with glomerular disease. *Kidney Int* 2014 *in press*
2. Wada T, Nangaku M. Novel roles of complement in renal diseases and their therapeutic consequences. *Kidney Int.* 2013 Sep;84(3):441-50.
3. 和田健彦. 膜性腎症と巣状分節性糸球体硬化症. *BIO Clinica*. 2013; 28(8): 726-731
4. 和田健彦. 近年明らかになったネフローゼ症候群をきたす液性因子. *内科*. 2013;112(4):767-770.
5. 和田健彦, 南学正臣. 補体異常と MPGN, DDD, C3GN. 腎と透析. 2014 印刷中

### 2. 学会発表

1. Wada T, Nangaku M, Maruyama S, Imai E, Shoji K, Kato S, Endo T, Muso E, Kamata K, Yokoyama H, Fujimoto K, Obata Y, Nishino T, Kato H, Uchida S, Sasatomi Y, Saito T, Matsuo S. Circulating suPAR in Japanese patients with glomerular diseases: a multicenter cross-sectional study. *Kidney Week 2013, Atlanta, U.S.A., November 2013*
2. 和田健彦. ネフローゼ症候群に関連する新規液性因子に対するアフェレシス療法の展望. 第34回アフェレシス学会学術集会(ワークショップ) 軽井沢、2013年11月

## H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 武曾 恵理, 斉藤 喬雄: 難治性ネフローゼ症候群に対する LDL アフェレシスの前向きコホート研究(POLARIS 調査)報告 中長期予後の解析 *Therapeutic Research* 33(8): 1220-1222. 2012
2. 武曾 恵理, 斉藤 喬雄: 難治性ネフローゼ症候群に対する LDL アフェレシスの前向きコホート研究(POLARIS 調査)報告 FSGS 症例とそれ以外の症例の効果および背景の比較 *Therapeutic Research* 33(2): 211-213. 2012
3. Muso E, Endo T, Itabashi M, Kakita H, Iwasaki Y, Tateishi Y, Komiya T, Ihara T, Yumura W, Sugiyama T, Joh K, Suzuki K. Evaluation of the newly proposed simplified histological classification in Japanese cohorts of myeloperoxidase-anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis in comparison with other Asian and European cohorts. *Clin Exp Nephrol.* In press
4. Miyata H, Uno K, Ono T, Yashiro M, Fukatsu A, Kita T, Kimura T, Muso E: Low Density Lipoprotein Apheresis Ameliorates Interferon- $\gamma$  Production in Patients With Nephrotic Syndrome. *Ther Apher Dial.* 2012 Apr;16(2):189-194

### 2. 学会発表

1. 膜性腎症の抗原 PLA2R の測定方法の開発: 秋山真一. 第55回日本腎臓学会学術総会(横浜)、2012年6月1日
2. JNSCS の結果から見える一次性ネフローゼ症候群の疫学: 山本陵平, 今井圓裕, 横山仁, 松尾清一. 第55回日本腎臓学会学術総会(横浜)、2012年6月1日
3. 抗 PLA2R 自己抗体測定用 ELISA の開発: 秋山真一, 丸山彰一, 松尾清一, 今井圓裕. 第55回日本腎臓学会学術総会(横浜)、2012年6月1日
4. 塚本達雄, 三宅崇文, 垣田浩子, 池田昌樹, 辻 宜樹, 遠藤知美, 古宮俊幸, 米本智美, 深澤 晃, 武曾恵理: 透析患者の末梢動脈疾患治療における LDL アフェレシスの位置づけ 第24回腎と脂質研究会. 2012. 3. 3 (京都)

5. 武曾恵理：難治性ネフローゼ症候群に対する  
LDL-アフェレシスの前向きコホート研究

(POLARIS 調査) 報告—中長期 予後の解析  
— 第 24 回腎と脂質研究会 2012. 3. 3 (京都)

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））  
分担研究報告書

多発性嚢胞腎分科会

責任研究分担者

堀江重郎 順天堂大学・泌尿器科・教授

研究分担者

奴田原紀久雄 杏林大学・泌尿器科・教授

研究協力者

石村栄治 大阪市立大学・腎臓内科・准教授  
鶴屋和彦 九州大学・腎臓内科・准教授  
長船健二 京都大学 iPS 細胞研究所増殖分化機構研究部門・准教授  
香村衡一 千葉東病院・泌尿器科・医長  
武藤 智 帝京大学・泌尿器科・准教授  
土谷 健 東京女子医科大学・腎臓内科・教授  
望月俊雄 東京女子医科大学・腎臓内科・講師  
花岡一成 東京慈恵会医科大学・腎臓・高血圧内科・講師  
乳原善文 虎の門病院分院・腎臓内科・部長  
安藤昌彦 名古屋大学医学部付属病院 先端医療・臨床研究支援センター・准教授  
成田一衛 新潟大学・第2内科・教授  
西尾 妙織 北海道大学・第2内科・助教  
の村信介 三重大学・腎臓内科・准教授  
中西浩一 和歌山県立医科大学・小児科・講師  
福田 敬 国立保健医療科学院・研究情報支援研究センター・上席主任研究官

**研究要旨**

**【背景・目的・方法】**

1. 「多発性嚢胞腎患者全国登録による多施設共同研究」(J-PKD レジストリー研究)：前向きコホート研究
2. 常染色体優性多発嚢胞腎 (ADPKD) 患者を対象とした肝嚢胞に関する QOL 調査：多施設共同前向き観察研究
3. ADPKD の包括的遺伝子変異の検索：本邦の ADPKD 症例の遺伝子変異を明らかにする。
4. ADPKD における基礎研究
  - ① ADPKD モデルマウスを用いた降圧薬投与実験及び腎内 RAS 関与についての検討
  - ② ADPKD 患者由来 iPS 細胞を用いた新規疾患モデルの作製
5. ADPKD セミナー：ADPKD 専門医の育成と、新規薬物療法に対する啓蒙

**【結果及び考察】**

1. 271 例が登録された。平均クレアチニン値 1.70mg/dl、平均 eGFR 値 49.3ml/min/1.73 m<sup>2</sup>であった。
2. 対象群 54 例、コントロール群 57 例の登録が終了した。FANLTC (p=0.0499)、FACT-Hep (p<0.0001) いずれも対象群とコントロール群の間で有意差を認めた。
3. サンガー法で 134 家系中 108 例 (83.2%) に遺伝子変異を同定した。78 例/108 例は新規遺伝子変異であった。
4. ADPKD における基礎研究
  - ① 腎嚢胞は DRI のみがコントロールと比べて有意に縮小し、腎機能も DRI のみが有意に改善した。
  - ② ADPKD 患者皮膚から iPS 細胞が樹立可能であった。
5. 28 名が参加し 2014/2/115,16 の 2 日間、東京で行った。計 11 のセッションに加えて、患者会からも参加いただきご講演いただいた。



## A. 研究目的

1. 「多発性嚢胞腎患者全国登録による多施設共同研究」(J-PKD レジストリー研究) : PKD 症例の治療実態、腎機能・容積、合併症を前向きに検討する。
2. 常染色体優性多発嚢胞腎 (ADPKD) 患者を対象とした肝嚢胞に関する QOL 調査 : 巨大肝嚢胞を有する ADPKD 症例における QOL 低下の実態を把握することを目的とする。
3. ADPKD の包括的遺伝子変異の検索 : ADPKD 責任遺伝子 *PKD1*、*PKD2* の変異は表現型と密接な関係にあることが知られているが、特に *PKD1* では巨大な遺伝子であることや複製領域を持つことから、遺伝子変異解析を困難にしている。本研究では本邦の ADPKD 症例の遺伝子変異を明らかにする。
4. ADPKD における基礎研究
  - ① ADPKD モデルマウスを用いた降圧薬投与実験及び腎内 RAS 関与についての検討 : ADPKD モデル動物に対する DRI の腎嚢胞抑制効果を検討する。また ADPKD に対する DRI の降圧効果、腎機能保護作用、腎容積に対する影響を検討する。
  - ② ADPKD 患者由来 iPS 細胞を用いた新規疾患モデルを作製する。
5. ADPKD セミナー : ADPKD 専門医の育成と、新規薬物療法に対する啓蒙

## B. 研究方法

1. 多施設共同中央登録による前方向コホート研究であり 2.5 年の登録期間が 2012 年 6 月に終了した。追跡期間は最終登録後 5 年、2017/6/30 までである。
2. 適格基準 : CT もしくは MRI で、肝嚢胞が肝実質の 25% 以上であると主治医が判断した ADPKD 症例。  
除外基準 : 肝切除あるいは肝移植手術施行例、20 歳未満。  
多施設共同前向き観察研究 (現在 6 施設、登録数 64 例) (疫学分科会との共同研究)  
マッチング方法 (frequency matching、年齢・性別・CKD ステージを考慮)  
QOL 調査内容 (調査票、調査時期、郵送方式の採用)  
エンドポイントの定義 (総合点数、各下位尺度点数)  
サンプルサイズ計算 (肝嚢胞占拠割合による QOL スコア差の効果量を仮定)  
共変量の選定 (QOL 評価時点、評価時点と直近の肝嚢胞占拠割合の交互作用、性別、年齢、CKD ステージ)  
統計解析計画作成 (線形混合モデル)

UMIN 臨床試験登録 (受付番号 R000009467、試験 IDUMIN000008039)

FACT-Hep 及び FANLTC 調査票を用いた多施設共同前向き観察研究。肝嚢胞の肝全体に対する占拠率 25% 以上の群の QOL 低下を 25% 以下の群と 3 年間比較する。

2013 年 6 月 30 日 : 登録期間終了

2016 年 6 月 30 日 : 追跡期間終了

目標症例数

対象群 (肝嚢胞占拠割合 25% 以上) 40 例

コントロール群 (肝嚢胞占拠割合 < 25%) 40 例

3. ADPKD の包括的遺伝子変異の検索 : 慈恵医大病院および関連病院の ADPKD 症例 180 例に対してサンガー法を用いてその遺伝子変異を検索した。

4. ① *Pkd1*lox-lox・Mx1 Cre マウスにアムロジピン、オルメサルタン、アリスキレンを投与し、嚢胞形成に与える影響をみる。また血圧、腎嚢胞、腎機能、肝嚢胞に対する効果を比較する。  
② ADPKD 患者由来の iPS 細胞を作製する。

5. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業研究班の研究分担者・協力者の施設より参加者を募り、本分科会で行った。

## (倫理面への配慮)

本研究は厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」を順守して行った。研究 1, 2 は、治療介入を一切行わない「観察研究」であるが、前向き研究であり、患者への研究に関する説明と患者の自由意思による。登録時に連結可能な患者識別番号を、各施設で決定して付与し、記入する。この患者識別番号は当該施設においてのみ連結可能であり、各施設で責任を持って管理した。

## C. 研究結果

1. 271 例が登録された。男性 95 例 (35%)、女性 176 例 (65%)。平均年齢 52.4 歳。家族歴あり 191 例 (70%)、なし 21 例 (8%)、不明 59 例 (22%)。合併症では肝嚢胞は 230 例 (85%)、脳動脈瘤 47 例 (17%)、心臓弁膜症 63 例 (23%) を認めた。降圧療法は 216 例 (80%) に対して行われ、RAA 系阻害薬は 205 例 (76%) に投与されていた。収縮期血圧  $126.1 \pm 14.1$  mmHg、拡張期血圧、 $77.4 \pm 10.9$  mmHg であった。検査所見では、クレアチニン値  $1.7 \pm 1.6$  mg/dl、eGFR 値  $49.3 \pm 27.4$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>、両腎容積  $1503.6 \pm 1025.1$  ml であった。登録時 eGFR は腹囲 ( $R^2=0.059082$ 、 $p=0.0014$ )、両腎容積 ( $R^2=0.255351$ 、 $p<0.0001$ )、収縮期血圧 ( $R^2=0.048493$ 、 $p=0.0003$ )、血清尿酸値 ( $R^2=0.369167$ 、 $p<0.0001$ ) と有意に逆相関し、血清 Hb 値 ( $R^2=0.261425$ 、 $p<0.0001$ )、血清 Hot

- 値 ( $R^2=0.253074$ ,  $p<0.0001$ )、血清 alb 値 ( $R^2=0.080838$ ,  $p<0.0001$ )と有意に相関した。
- 対象群 54 例、コントロール群 57 例の登録が終了した。登録時 QOL 調査では FACT-Hep  $55.8 \pm 11.1$  点 (0-72 点)、FANLTC  $72.6 \pm 13.9$  点 (0-104 点)であった。FANLTC ( $p=0.0499$ )、FACT-Hep ( $p<0.0001$ )いずれも対象群とコントロール群の間で有意差を認めた。
  - 134 家系中 108 例 (83.2%) に遺伝子変異を同定した。
    - *PKD1*: 88 (42 truncated, 12 splicing, 29 missense, 5 in-frame)
    - *PKD2*: 24 (17 truncated, 3 splicing, 3 missense, 1 large deletion)
    - 78 例/108 例は新規遺伝子変異であった。
- 年間 eGFR 変化量は *PKD1* 変異群  $-3.25 \pm 2.15$  ml/min/year に対して *PKD2* 変異群  $-2.08 \pm 1.15$  ml/min/year と、有意 ( $P<0.01$ ) に *PKD1* 変異群の方が eGFR 年間低下量が大きかった。
- ①アリスキレン投与にて有意に嚢胞形成が抑えられた。オルメサルタン、アリスキレン投与にて腎臓の線維化を抑制できた。アリスキレンのみで腎内 RAS を抑制できた。
    - ②ADPKD 患者皮膚から iPS 細胞が樹立可能であった。
  - 28 名が参加し 2014/2/115, 16 の 2 日間、東京で行った。一部の参加予定者が豪雪のため上京できなかった。計 11 のセッションに加えて、患者会からも参加いただきご講演いただいた。また新規治療の適応についてグループディスカッションも行った。

#### D. 考察

- 今回のコホート研究では、CKD stage III の症例が最も多かった。また、登録時 eGFR は腹囲、両腎容積、収縮期血圧、血清尿酸値と有意に逆相関し、血清 Hb 値、血清 Hct 値、血清 alb 値と有意に相関した。今後、これらの症例を追跡することで、PKD 患者の治療実態、腎機能の推移、合併症の発症など病態を明らかにしていく。
- FANLTC、FACT-Hep の 2 つの QOL 指標において
  - 年齢および CKD ステージ間で包括的および肝特異的 QOL に差を認めない
  - 肝嚢胞の占拠率が高いと QOL が低い
 本邦の PKD コホート研究である J-PKD では、ADPKD の 85%の症例に肝嚢胞を認める。FANLTC、FACT-Hep の 2 つの QOL 指標において、今後縦断的な変化を観察していく予定である
- 今回の検討ではサンガー法で 83.2%に遺伝子変異の同定が可能であった。今後次世代遺伝子解析も含めた検討が必要である。

- ①嚢胞増悪には腎内 RAS 系の関与が示唆される。アリスキレンには嚢胞抑制効果がある可能性がある。
  - ②今後、ADPKD 患者皮膚から樹立した iPS 細胞の分化誘導を検討する。
- ADPKD は本邦で約 30,000 人の患者数が予想される、最も頻度が高い遺伝性腎疾患である。地域格差なく、現状でのベストの医療サービスを患者さんに提供するためには、さらに多くの専門医育成が急務である。

#### E. 結論

- J-PKD コホート研究によって PKD の自然史を解明していくことが期待された。
- ADPKD における包括的および肝特異的 QOL は肝嚢胞占拠率の増大に伴って悪化した。今後、縦断的研究により肝嚢胞と QOL の変化を追跡検討していく予定である。
- 本邦の ADPKD 患者における変異と表現型について確立していく必要があると考えられる。
- ①ADPKD の嚢胞増悪には腎内 RAS 系の関与が示唆され、今後アリスキレンの嚢胞抑制効果を検証する必要性が示された。
  - ②ADPKD 患者皮膚から iPS 細胞が樹立可能であった。
- ADPKD 専門医育成目的のセミナーは有用である。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Higashihara E, Nutahara K, Okegawa T, Shishido T, Tanbo M, Kobayashi K, Nitadori T. Kidney volume and function in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Clin Exp Nephrol*. 2014 Feb;18(1):157-65.
- Hirano K, Kawamura T, Tsuboi N, Okonogi H, Miyazaki Y, Ikeda M, Matsushima M, Hanaoka K, et al. The predictive value of attenuated proteinuria at 1 year after steroid therapy for renal survival in patients with IgA nephropathy. *Clin Exp Nephrol*. 2013; 17: 555-62.
- Muto S, Sugiura SI, Nakajima A, Horiuchi A, Inoue M, Saito K, Isotani S, Yamaguchi R, Ide H, Horie S. Isomorphic red blood cells using automated urine flow cytometry is a reliable method in diagnosis of bladder cancer. *Int J Clin Oncol*. 2013 Oct 9. [Epub ahead of print]
- Tambo M, Okegawa T, Shishido T, Higashihara E, Nutahara K. *World J Urol*. 2013 Sep 15. [Epub ahead of print]

## 2. 学会発表

1. Muto S, Mochizuki T, Tsuchiya K, Nishio S, Hanaoka K, Tsuruya K, Ishimura E, Narita I, Kamura K, Ubara Y, Ando M, Nutahara K, Horie S. The compiling data at the time of enrollment in J-PKD registry. 46th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov. 7–Nov. 10, 2013 in Atlanta, USA.
2. Horie S, Muto S, Mochizuki T, Tsuchiya T, Nishio S, Hanaoka K, Tsuruya K, Ishimura E, Narita I, Kamura K, Ubara Y, Nutahara K. The compiling data at the time of enrollment in J-PKD registry. World Congress of Nephrology 2013, 2013/5/31–6/4, Hong Kong, China.
3. Shima Y, Nakanishi K, Hama T, Mukaiyama H, Togawa H, Sato M, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. Crescentic IgA Nephropathy (C-IgAN) in Children. 46th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov. 7–Nov. 10, 2013 in Atlanta, USA. JASN 24:818A
4. Hama T, Nakanishi K, Mukaiyama H, Togawa H, Sato M, Shima Y, Miyajima M, Nozu K, Nagao S, Takahashi H, Iijima K, Yoshikawa N. Smad3 Phosphorylated at Both Linker and COOH-Terminal Regions in Cyst-Lining Epithelia in cpk Mouse, a Model of ARPKD. 46th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov. 7–Nov. 10, 2013 in Atlanta, USA. JASN 24:303A
5. Yoshikawa N, Nakanishi K, S Oba M, Sako M, Ohashi Y, Iijima K for Japanese study group of kidney disease in children (JSKDC). Increased Duration and Dose of Prednisolone (PSL) Treatment Does Not Reduce Relapses in Childhood Nephrotic Syndrome. 46th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov. 7–Nov. 10, 2013 in Atlanta, USA. JASN 24:3B
6. Kaito H, Nozu K, Oka M, Morisada N, Ninchoji T, Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K. Natural History and Protein Expression Pattern in Autosomal Recessive Alport Syndrome Based on the Comprehensive Strategy for Genetic Analysis. 46th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov. 7–Nov. 10, 2013 in Atlanta, USA. JASN 24:524A
7. Ninchoji T, Kaito H, Nozu K, Hama T, Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K. Investigation of Principal Mechanism for Renal Sodium Retention in Children with Idiopathic Nephrotic Syndrome. 46th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov. 7–Nov. 10, 2013 in Atlanta, USA. JASN 24:829A
8. Kumagai Y, Ueda H, Nakanishi K, Yoshikawa N, Kurayama R, Yan K, Ashida A, Yamamoto D, Nagata M, Fujimaru R. Tri-Allelic Inheritance of NPHS1 Gene in Infantile-Onset Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. 46th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov. 7–Nov. 10, 2013 in Atlanta, USA. JASN 24:608ANakanishi K, Iijima K, Ishikura K, Hataya H, Nakazato H, Sasaki S, Honda M, Yoshikawa N. Two-Year Outcome of the ISKDC Regimen and Frequent-Relapsing Risk in Children with Idiopathic Nephrotic Syndrome. 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, Shanghai, China, Aug. 30–Sep. 3, 2013
9. Shima Y, Nakanishi K, Mukaiyama H, Hama T, Togawa H, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. The relationship between timing of renal biopsy and pathological variables of the Oxford classification (Ox) in childhood IgA Nephropathy. 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, Shanghai, China, Aug. 30–Sep. 3, 2013
10. Mukaiyama H, Nakanishi K, Hama T, Togawa H, Shima Y, Iijima K, Yoshikawa N. Mutation analysis in Japanese patients with congenital and infantile nephrotic syndrome. 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, Shanghai, China, Aug. 30–Sep. 3, 2013
11. Hama T, Nakanishi K, Mukaiyama H, Sato M, Togawa H, Shima Y, Miyajima M, Takahashi H, Nagao S, Iijima K, Yoshikawa N. Possible contribution of fibrocytes to renal fibrosis in cpk mouse, a model of ARPKD. 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, Shanghai, China, Aug. 30–Sep. 3, 2013
12. Sako Nakamura M, Iijima K, Saito Oba M,

- Honda M, Nakamura H, Nagata M, Ohashi Y, Nakanishi K, Yoshikawa N. Cyclosporine C2 monitoring for the treatment of frequently relapsing nephrotic syndrome in children: A multicenter randomized trial. 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, Shanghai, China, Aug. 30-Sep. 3, 2013
13. Osafune K. Directed Differentiation of iPS Cells toward Kidney Fates. American Society of Nephrology. Kidney Week 2013, Georgia World Congress Center, Atlanta, GA. November 9, 2013.
  14. Toyohara T, Yamagishi Y, Mae S, Inoue T, Araoka T, Kasahara T, Yamanaka S, Nakajima H, Osafune K. Development of differentiation methods from human iPSCs/ESCs into nephron progenitor cells. 11th Annual Meeting, International Society for Stem Cell Research. Boston Convention and Exhibition Center, Boston, MA, USA. June 14, 2013.
  15. 武藤 智. よくわかるシリーズ5「多発性嚢胞腎」. 多発性嚢胞腎に対するバソプレシン V2受容体拮抗薬. 第58回日本透析医学会学術集会・総会. 福岡2013/6/20-23
  16. 武藤 智, 望月俊雄, 土谷 健, 奴田原紀久雄, 西尾妙織, 花岡一成, 鶴屋和彦, 石村栄治, 成田一衛, 香村衡一, 乳原善文, 堀江重郎. 多発性嚢胞腎患者全国登録による多施設共同研究(J-PKDレジストリー研究)の登録時データの集計. 第56回日本腎臓学会学術総会. 東京. 2013/5/9-12.
  17. 前 伸一, 豊田 太郎, 荒岡 利和, 塩田 文彦, 豊原 敬文, 笠原 朋子, 小川 誠司, 山中 伸弥, 長船 健二. 「ヒトiPS細胞から三次元構造を有する後腎尿管芽への分化誘導法の確立」第56回日本腎臓学会学術総会. 東京国際フォーラム(東京). 2013年5月10日.
  18. 荒岡 利和, 豊原 敬文, 塩田 文彦, 前 伸一, 山中 伸弥, 長船 健二. 「ヒトiPS細胞から誘導された中間中胚葉の発生生物学的機能と分化機構の解析」第56回日本腎臓学会学術総会. 東京国際フォーラム(東京). 2013年5月10日.
  19. 笠原 朋子, 前 伸一, 近本 裕子, 沖田 圭介, 浅香 勲, 才津 浩智, 柳田 素子, 服部 元史, 長船 健二. 「ARPKD特異的iPS細胞の分化系を用いた腎嚢胞および肝線維症に対する新規疾患モデルの作製」第56回日本腎臓学会学術総会. 東京国際フォーラム(東京). 2013年5月10日.
  20. 中島 晶子, 武藤 智, 杉浦 正一郎, 堀内明, 古謝 将之, 井上 正浩, 野間 康央, 北村 香介, 常盤 紫野, 斎藤 恵介, 吉井隆, 磯谷 周治, 井手 久満, 山口 雷蔵, 堀江 重郎. 反復する嚢胞感染に対して術前検討用腎三次元立体モデルを作成し開窓術を行ったADPKD患者の一例. 第43回日本腎臓学会東部学術大会. 東京. 2013/10/4-5.
  21. 中島 晶子, 武藤 智, 杉浦 正一郎, 堀内明, 古謝 将之, 井上 正浩, 野間 康央, 北村 香介, 常盤 紫野, 斎藤 恵介, 吉井隆, 磯谷 周治, 井手 久満, 山口 雷蔵, 堀江 重郎. 反復する嚢胞感染に対して術前検討用腎三次元立体モデルを作成し開窓術を行ったADPKD患者の一例. 第78回日本泌尿器科学会東部総会. 東京. 2013/10/17-19.
  22. 武藤 智, 陸 彦, 中島晶子, 杉浦正一郎, 古謝将之, 堀内 明, 野間康央, 北村香介, 常盤紫野, 吉井 隆, 斎藤恵介, 磯谷周治, 井手久満, 山口雷蔵, 堀江重郎. ADPKD症例における尿中cAMP. 第13回PKD研究会. 東京. 2013/11/30
  23. 中島 晶子, 武藤 智, 杉浦 正一郎, 堀内明, 古謝 将之, 井上 正浩, 野間 康央, 北村 香介, 常盤 紫野, 斎藤 恵介, 吉井隆, 磯谷 周治, 井手 久満, 山口 雷蔵, 堀江 重郎. 反復する嚢胞感染に対して術前検討用腎三次元立体モデルを作成し開窓術を行ったADPKD患者の一例. 2013年嚢胞性腎疾患研究会. 東京. 2013/9/21.
  24. 濱武継, 中西浩一, 向山弘展, 佐藤匡, 戸川寛子, 島友子, 宮嶋正康, 高橋久英, 長尾静子, 飯島一誠, 吉川徳茂 cpkマウス多発性嚢胞腎モデル腎線維化におけるfibrocyteの関与 第48回日本小児腎臓病学会学術集会, 2013. 6. 徳島
  25. 長尾静子(枝澄香), 吉原大輔, 釘田雅則, 佐々木麻衣, 堀江重郎, 中西浩一, 阿部高明, 山口太美雄 テルミサルタンによるヒト常染色体劣性多発性嚢胞腎症オーソログ遺伝子変異モデルにおける病態発現抑制効果 第48回日本小児腎臓病学会学術集会, 2013. 6. 徳島
  26. 濱武継, 中西浩一, 佐藤匡, 向山弘展, 戸川寛子, 島友子, 辻本弘, 神波信次, 吉川徳茂 常染色体劣性多発性嚢胞腎の鑑別を要した3例 第35回日本小児腎不全学会学術集会 2013, 10, 24, 郡山
  27. 濱武継, 中西浩一, 向山弘展, 戸川寛子, 佐藤匡, 島 友子, 宮嶋正康, 野津寛大, 高橋久英, 長尾枝澄香, 飯島一誠, 吉川徳茂 cpkマウスARPKDモデルにおける病的Smad3リ