

令和 2 年 4 月 23 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04667

研究課題名(和文) ループス腎炎の炎症特異的診断バイオマーカー開発とその実用化に関する国際調査研究

研究課題名(英文) International Study for Development and Clinical Application of Lupus Biomarkers Reflecting Renal Inflammation

研究代表者

坪井 直毅 (Tsuboi, Naotake)

藤田医科大学・医学部・教授

研究者番号：50566958

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：糸球体腎炎の組織診断に必要な腎生検は、検査後の出血リスクや入院安静を要するため、患者負担の大きい検査です。我々は、糸球体腎炎では白血球の表面分子が糸球体から尿中に漏れるのではと考え、本邦、海外で収集された腎臓病患者の生体試料を用いて検討しました。その結果、CD11bと呼ばれる接着分子の1構成成分をもつ白血球が、全身性ループスエリテマトーデスに合併する糸球体腎炎や血管炎患者の糸球体で増加すること、またCD11bは尿中でも上昇することを見出しました。また他の白血球由来分子2種(CD163、CD16b)との比較により、尿中CD11bが活動性ループス腎炎に与える影響が最も高いことが明らかとなりました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果から、尿中CD11bはループス腎炎、血管炎関連腎炎の診断法としてのみならず、経過中の治療効果判定や再発予測のための検査法として有用だと示唆されました。また、本国での腎疾患の治療現場のみならず、不十分な医療環境から患者が正確に組織診断されることなく末期の腎不全に陥るような発展途上国においても、本法は外来の尿検査で行える負担の低い検査法として期待できます。

研究成果の概要(英文)：Because kidney biopsy essential for diagnosis is associated with risk of bleeding and requires hospitalization of patients, repeated examinations for the evaluation of therapeutic efficacy and disease recurrence are not encouraged.

We hypothesized that surface molecules on inflammatory glomerular leukocytes leak into urine. Accordingly, we analyzed bio-samples from domestic and international patients with kidney diseases. The study revealed significant elevation of urinary CD11b with increased numbers of glomerular leukocytes expressing CD11b in patients with lupus nephritis, a major kidney complication of systemic lupus erythematosus, and in patients with vasculitis. Further analysis of the diagnostic performance for predicting active lupus nephritis demonstrated marked superiority of urinary CD11b compared with two other leukocyte-derived molecules (CD163 and CD16b).

研究分野：腎臓病学、免疫学

キーワード：ループス腎炎 白血球 バイオマーカー 疾患活動性予測 腎生検

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 糸球体腎炎は、腎機能低下を引き起こし、末期の腎不全で 20% を占める原因である。特に難病全身性エリテマトーデスに合併するループス腎炎(LN)の腎病理像は多彩であり、その診断や疾患の活動性の評価、治療方針の決定には、組織学的評価が必須である。しかしながら、組織採取時の出血リスクにより、患者の身体負担は大きく検査には入院を要する。そのため、外来通院中の治療効果判定や再発予測、全身状態の悪い患者や高齢者などで腎生検ができない場合には、腎生検に代わる検査法が望まれていた。また、医療水準の低さから腎生検が行われない国々も数多く存在する。

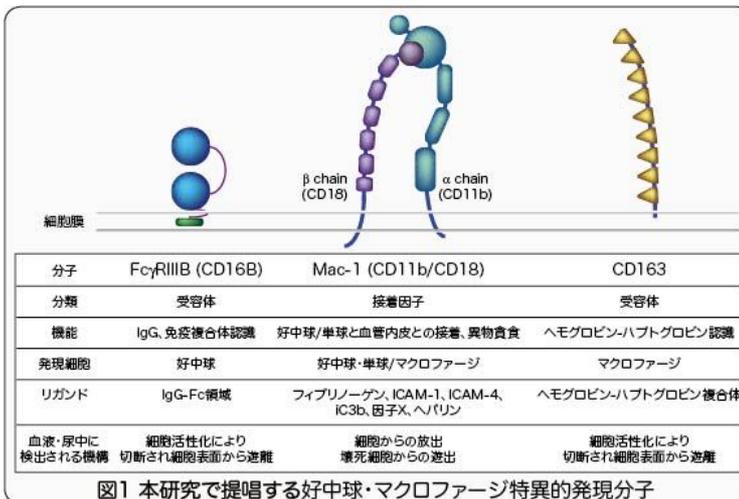
(2) 糸球体腎炎の活動期には白血球が腎糸球体に集積し炎症を惹起する。白血球の中でも特に好中球、マクロファージは急性炎症の原因として知られている。申請者は、国内患者サンプルを用い、『特定の白血球上に発現』し、かつ腎生検の代用となる『3種の糸球体腎炎特異的なバイオマーカー候補分子(CD11b、CD163、CD16B)』(図1)を見出した。これらを国際標準のLN診断法へ高めるためには、疾患発症に影響を与える人種、環境因子など疫学的背景、診療実態調査を含めた国際的かつ大規模な調査研究を行う必要がある。そこで本研究では、糸球体腎炎の活動期には白血球発現タンパク分子が尿中に漏れ、その濃度を評価することにより、糸球体での白血球集積を推測が可能ではないかという仮説のもと、国内外患者生体試料を用いて解析した。

2. 研究の目的

本研究は、申請者が同定したLNバイオマーカーを疫学的背景の異なる諸外国患者集団で比較検討し、各国におけるプラクティスパターンの中での有用性を評価することを目的とする。

3. 研究の方法

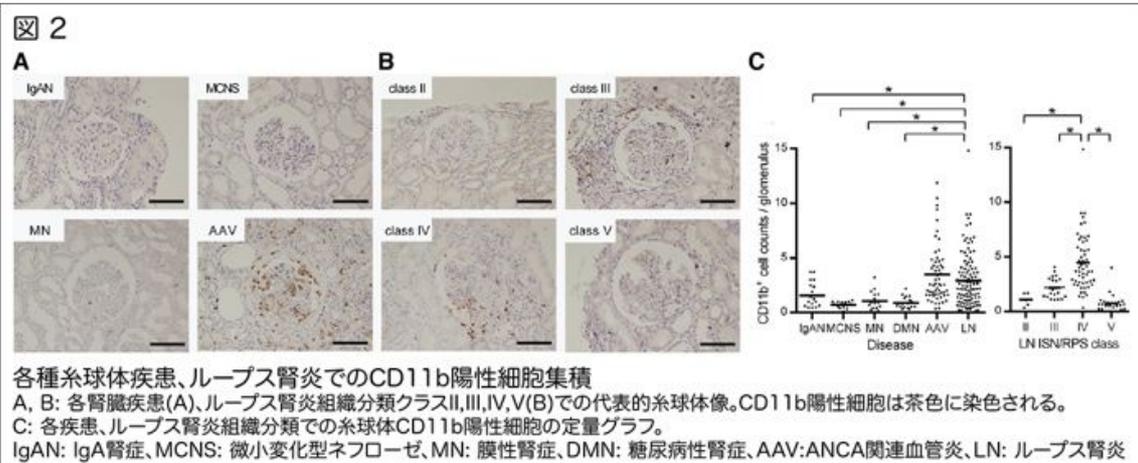
(1) 名古屋大学医学部附属病院およびその関連病院から集めた様々な腎糸球体疾患 272 例の腎生検組織を観察し、尿中 CD11b、CD163 の各バイオマーカー値と、腎糸球体免疫染色による CD11b、



エステラーゼ、CD163 陽性細胞数との相関解析を行った。  
 (2) 尿中 CD163、CD16B、MCP-1 濃度測定結果を合わせ、各バイオマーカーの ROC カーブを検討することにより、4 因子の増殖型 LN 診断予測に関する特異性、感受性比較を実施した。  
 (3) 群馬大学および埼玉医科大学が管理するループスコホートの生体試料においてバリデーションを行った。  
 (4) Mexico City (主任研究者 Florencia Rossetti, INCMNSZ)、Shanghai (教授 Ding Xiaoqiang, Fudan University) においても共同研究を開始し、LN 患者尿サンプル中の CD11b、CD163 の測定および臨床・検査情報の収集を行った。

4. 研究成果

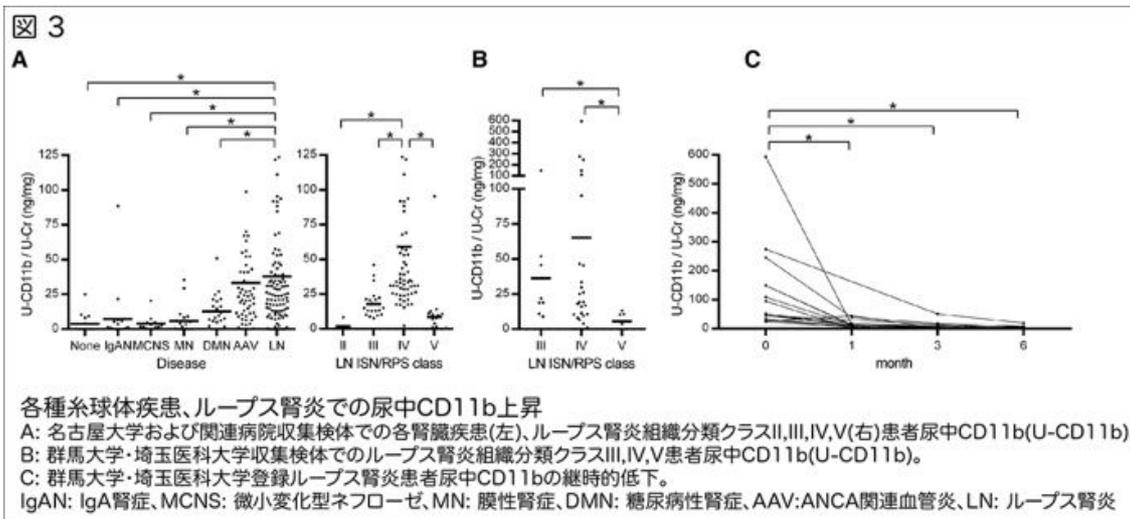
(1) 名古屋大学医学部附属病院およびその関連病院から集めた様々な腎糸球体疾患 272 例の腎生検組織を観察し、LN、および ANCA 血管炎関連腎炎の糸球体で CD11b をもつ白血球数が増加し、さらに、ループス腎炎患者 118 例では、強い治療を必要とするクラス III および IV と呼ばれる疾患活動性が高いグループで特に顕著であった(図2)。



(2) クラス III・IV の活動性 LN 患者と血管炎関連腎炎患者では尿中の CD11b が上昇する特徴

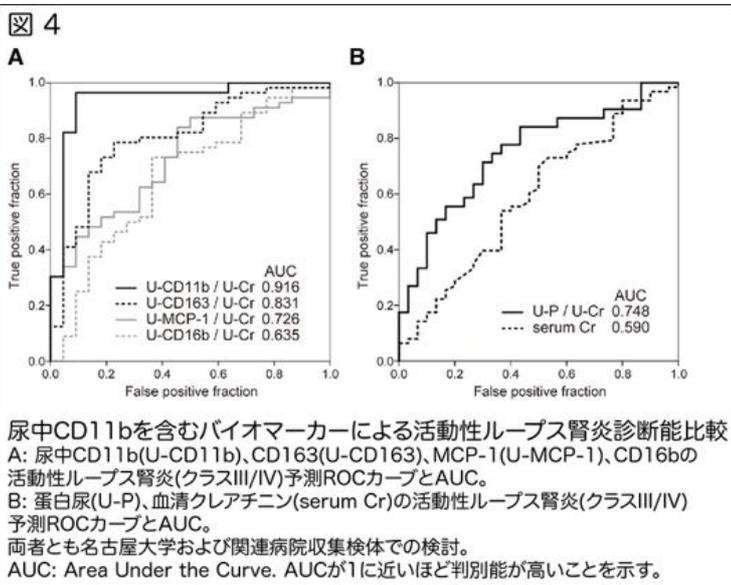
があること、さらには糸球体での CD11b 陽性白血球数との強い相関があることが認められた (図 3)。

(3) LN 患者での尿中 CD11b 漏出上昇は、群馬大学・埼玉医科大学が収集した別個の患者群でも確かめられ、かつ治療により尿中 CD11b 漏出は低下することが明らかとなった(図 3)。



(4) 尿中 CD11b によるクラス III および IV の分類される LN に対する診断能力を、CD163、CD16b、MCP-1、さらには血清クレアチニン、尿タンパクといった従来の腎機能指標と比較検討したところ、CD11b が他に比べはるかに優れた感受性および特異性を有することが証明された(図 4)。

(5) 中国、メキシコの LN 尿検体においても、CD11b、CD163 の濃度上昇を認める症例を確認した。現在、国内外 LN 患者における、尿中の両バイオマーカーと臨床・検査情報・患者予後(寛解導入、腎予後)との関連を解析中である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kitagawa A, Tsuboi N, Yokoe Y, Katsuno T, Ikeuchi H, Kajiyama H, Endo N, Sawa Y, Suwa J, Sugiyama Y, Hachiya A, Mimura T, Hiromura K, Maruyama S.	4. 巻 95(3)
2. 論文標題 Urinary levels of the leukocyte surface molecule CD11b associate with glomerular inflammation in lupus nephritis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Kidney Int.	6. 最初と最後の頁 680-692
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.kint.2018.10.025.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Katsuno T, Ozaki T, Ozeki T, Hachiya A, Kim H, Kato N, Ishimoto T, Kato S, Kosugi T, Tsuboi N, Mizuno M, Ito Y, Maruyama S.	4. 巻 22(6)
2. 論文標題 Investigation on the benefits of mycophenolate mofetil and therapeutic drug monitoring in the treatment of Japanese patients with lupus nephritis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin Exp Nephrol. 2018 Dec;22(6):.	6. 最初と最後の頁 1341-1350
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10157-018-1590-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件／うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Yuki Yokoe, Naotake Tsuboi, Shoichi Maruyama
2. 発表標題 Urinary CD11b and CD163 Reflect Clinical and Histological Diseases Activity in Renal Involvement of Anti-Neutrophil Cytoplasmic Anti-body-Associated Vasculitides.
3. 学会等名 51th Annual Meeting of the American Society of Nephrology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuko Shimamura, Naotake Tsuboi, Yutaka Kamimura, Shoichi Maruyama
2. 発表標題 Therapeutic Efficacy and Safety of Human Adipose-Derived Stem Cells for Anti-GBM Nephritis.
3. 学会等名 Kidney Week 2018 - San Diego, CA (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横江優貴、島村涌子、北川章充、坪井直毅、丸山 彰一
2. 発表標題 ANCA関連血管炎における尿中可溶性CD11bとCD163の意義
3. 学会等名 第61回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akimitsu Kitagawa, Naotake Tsuboi, Yutaka Kamimura, Takayuki Katsuno, Shoichi Maruyama
2. 発表標題 Urinary AlphaM Subunit of Integrin Mac-1 Associates With Glomerular Inflammation in Lupus Nephritis
3. 学会等名 50th Annual Meeting of the American Society of Nephrology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Akimitsu Kitagawa, Naotake Tsuboi, Yuko Shimamura, Yutaka Kamimura, Shoichi Maruyama
2. 発表標題 glomerular inflammation in antibody-mediated glomerulonephritis
3. 学会等名 ISN Frontiers Meetings 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akimitsu Kitagawa, Naotake Tsuboi, Takayuki Katsuno, Shoichi Maruyama
2. 発表標題 URINARY CD11B, AN ALPHA SUBUNIT OF INTEGRIN MAC-1, ASSOCIATES WITH HISTOLOGICAL DISEASE ACTIVITY IN LUPUS NEPHRITIS
3. 学会等名 54th ERA-EDTA Congress (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北川章充、横江優貴、坪井直毅、丸山 彰一
2. 発表標題 尿中CD11bはループス腎炎の組織学的疾患活動性と関連する
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Munetoshi Karasawa, Asuka Hachiya, Naotake Tsuboi, Shoichi Maruyama, Kazuhiro Furuhashi
2. 発表標題 Urinary Levels of CD11b and CD163 Determine Rapid Responders to Remission Induction Therapy in Proliferative Lupus Nephritis
3. 学会等名 52th Annual Meeting of the American Society of Nephrology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naotake Tsuboi, Yuki Yokoe, Munetoshi Karasawa, Yukio Yuzawa, Shoichi Maruyama
2. 発表標題 CLINICAL IMPACTS OF URINARY CD11B AND CD163 ON PATIENT OUTCOMES IN ANCA- ASSOCIATED GLOMERULONEPHRITIS
3. 学会等名 ISN World Congress of Nephrology 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	湯澤 由紀夫  (Yuzawa Yukio)  (00191479)	藤田医科大学・医学部・教授   (33916)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	丸山 彰一  (Maruyama Shoichi)  (10362253)	名古屋大学・医学系研究科・教授    (13901)	
研究 分担者	林 宏樹  (Hayashi Hiroki)  (10378086)	藤田医科大学・医学部・准教授    (33916)	
研究 分担者	勝野 敬之  (Katsuno Takayuki)  (60642337)	愛知医科大学・医学部・准教授    (33920)	