

令和 2 年 7 月 15 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10142

研究課題名(和文)急性巣状細菌性腎炎の非侵襲的早期診断法および新規治療法の確立

研究課題名(英文)Establishing the diagnosis of acute focal bacterial nephritis in children

研究代表者

水谷 誠 (MIZUTANI, Makoto)

山口大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：10593303

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：急性巣状細菌性腎炎(Acute focal bacterial nephritis, AFBN)の病態、特に炎症の過程にIFN- γ が大きく関与していることをつきとめていた。本研究で"IFN- γ 過剰産生"の病態分析を行った。サイトカイン測定では、IFN- γ の影響を受けると考えられるマクロファージの活性化としてsTNFR1が、急性腎盂腎炎(Acute pyelonephritis, APN)に比しAFBNで有意に高値となることを示した(4,100 vs. 3,400pg/mL, p=0.006)。IFN- γ 産生源の検討として末梢血単核球細胞内サイトカイン解析を行うも明らかな産生細胞の同定には至っていない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

AFBNの病態解明を進めるべく、本研究を実施した。サイトカイン解析では、AFBN患児においてIFN- γ の影響を受けると考えられるマクロファージの活性化を示唆する所見を得た。AFBNが高サイトカイン血症を来す病態が追加証明され、上部尿路感染症の中で重症病態であることがより明確になった。IFN- γ 産生源の検討では、明らかな産生細胞の同定には至らず、新規治療法の確立とともに今後の研究課題となった。

研究成果の概要(英文)：We have found that IFN- γ is greatly involved in the pathophysiology of acute focal bacterial nephritis (AFBN), especially the process of inflammation. Pathological analysis of "IFN- γ hyperproduction" in this study. Cytokine measurements showed that sTNFR1 as activation of macrophages was significantly higher in AFBN than in acute pyelonephritis (APN) (4,100 vs. 3,400 pg/mL, p=0.006). It is considered that macrophages are affected by IFN- γ . As a study of the source of IFN- γ production, we have performed a cytokine analysis of intracellular mononuclear cells in peripheral blood, but the identification of the producing cell has not been clarified.

研究分野：小児科学

キーワード：小児腎臓 上部尿路感染症 高サイトカイン血症 IFN-

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性巣状細菌性腎炎 (Acute focal bacterial nephritis, AFBN) は“液状化を伴わない急性細菌感染症による腎実質内腫瘍”と定義され、急性腎盂腎炎 (Acute pyelonephritis, APN) と腎膿瘍の中間に位置する上部尿路感染症の一形態である (Radiology. 1979). AFBN 患者は、APN 患者にみられる発熱、腰背部痛だけではなく、しばしばけいれんや意識障害などの中枢神経症状を合併することが知られている (Pediatr Nephrol. 2007). また、APN 患者と比較して最高体温が高く、有熱期間が長く、腎瘢痕形成率が高い (Pediatr Infect Dis. 2010), さらに AFBN 患者において、抗菌薬投与期間が APN で適切とされている 2 週間では再燃率が高い (Pediatrics. 2007) との報告がある。

AFBN は APN に比し、強い炎症を惹起する重症病型であると考えられるが、その病態に関して詳細は未だ明らかにされておらず、治療法も現時点では APN と基本的に同じく抗菌薬治療のみが一般的である。 AFBN の病態を解明し、早期診断法・新規治療法が確立されることが望まれる。

2. 研究の目的

[1] AFBN の病態解明

AFBN の病態解明を目的に、申請者らはこれまでサイトカインその他のバイオマーカーを用いて研究を行ってきた。予備的検討で、AFBN は高サイトカイン血症を呈し、APN に比し、血清 IL-6, IL-10, IFN- γ 濃度が有意に高いことを世界で初めて明らかにした。通常、細菌感染症の際には IL-6 などの炎症性サイトカインが上昇するが、IFN- γ は上昇しない。IFN- γ の上昇が AFBN を特異なものとしており、細菌感染症のみでは説明できない本病態を解明する端緒となる可能性がある。

臨床症状は、本検討においても、AFBN 患者と APN 患者の間に最高体温、有熱期間で有意差が示されたが、どちらの項目も測定した全サイトカインの中で IFN- γ とのみ相関を認めた (最高体温: 相関係数 0.50, p 値 0.042, 有熱期間: 相関係数 0.63, p 値 0.0091)。また、検査成績で示された AFBN におけるリンパ球減少においても、最も影響力のあるサイトカインは IFN- γ であった (p 値 0.048, t 値 -2.33)。以上のことから、申請者らは AFBN の病態、特に炎症の過程に IFN- γ が大きく関与しており、“IFN- γ 過剰産生”の病態を分析することで AFBN の病態解明に迫ることができると考えている。

[2] AFBN における非侵襲的早期診断法の確立

上部尿路感染症において、有熱期間は腎瘢痕形成の危険因子であると報告されており (Pediatr Nephrol. 2003), 有熱期間の長い AFBN を早期診断・治療することで腎瘢痕形成を抑制できる可能性がある。現時点では、画像的な所見が診断根拠となるが、超音波検査による診断感度の低さ、造影 CT における放射線被曝と造影剤の副作用の問題がある。また、尿中白血球陽性率が低く尿培養検査が陰性となることも多いため、ルーチン検査のみでは見逃されることも少なくない。その場合、上部尿路感染症を繰り返し、腎瘢痕化が進行する危険性がある。AFBN が適切に診断されるためにも、鑑別のための指標は一般検査で簡便に使えるものが望ましい。予備的研究において、尿 β_2 MG/Cr が AFBN 患者で有意に高く、また、血清 IFN- γ と強い正の相関を示した。症例数を増やし、他のバイオマーカーと組み合わせるなどして、AFBN に対する高精度の早期診断指標を作ることができれば革新的である。

[3] AFBN における腎瘢痕化発症予防のための新規治療法の確立

現在 AFBN に対する治療として、抗菌薬の長期投与 (APN に比して期間が長く、約 3 週間) が一般的に行われているにもかかわらず、腎瘢痕化は 60%以上にみられている。小児期の上部尿路感染症罹患後、腎瘢痕を形成した症例の 5~30%に思春期以降にも腎機能障害が認められ、一部の症例が末期腎不全に至ると報告されている (J Urol. 2002)。AFBN の炎症過程における“IFN- γ 過剰産生”の病態を解明し、IFN- γ の作用点あるいは IFN- γ 産生細胞を標的にしたグロブリン製剤や副腎皮質ステロイドの併用等、新規抗炎症療法の有用性を検証していく。新規治療を追加することでより早期に炎症を終結させ、中枢神経合併症および腎瘢痕などの後遺症を抑制できる可能性がある。

3. 研究の方法

[1] AFBN, APN におけるさらなるサイトカイン解析

AFBN における“IFN- γ 過剰産生”の機序をサイトカイン解析を進めて解明する。

その際、IFN- γ を産生する細胞、また、特に IFN- γ の影響を受けると考えられるマクロ

ファージとの関連を考慮して、新たなサイトカインとして sTNFR1 を追加する。

[2] 新たなバイオマーカーを加え、臨床データを集積する。

AFBN の病態解明、また AFBN の非侵襲的早期診断法確立のため、新たなバイオマーカーとしてフェリチン、可溶性 IL-2 レセプター、 β_2 MG を加え、臨床データを集積する。

[3] IFN- γ 産生細胞についての検討

(1) IFN- γ を産生する細胞が、末梢血単核球または腎局所に存在すると考え、それぞれについてフローサイトメトリーを用いて検討する。

末梢血単核球での IFN- γ 産生について: 入院時の末梢血(採血後 3 時間以内)を用い、末梢血単核球 (CD4+, CD8+, CD14+, CD56+/CD3 γ δ T 細胞) の細胞内 IFN- γ の発現についてフローサイトメトリーを用いて解析する (AFBN 5 例, APN 5 例, disease control 5 例)。

(2) 腎培養細胞での IFN- γ 産生について: 腎培養細胞 (糸球体メサンギウム細胞) を用いて、LPS 刺激による上清中サイトカイン、とくに IFN- γ 濃度について検討する。細胞は NHMC-正常ヒトメサンギウム細胞(LONZA)を用い、培地は MsGM メサンギウム細胞増殖培(LONZA)を用いる。細胞を刺激する LPS は、E.coli O55:B5 (LBL) を使用する。

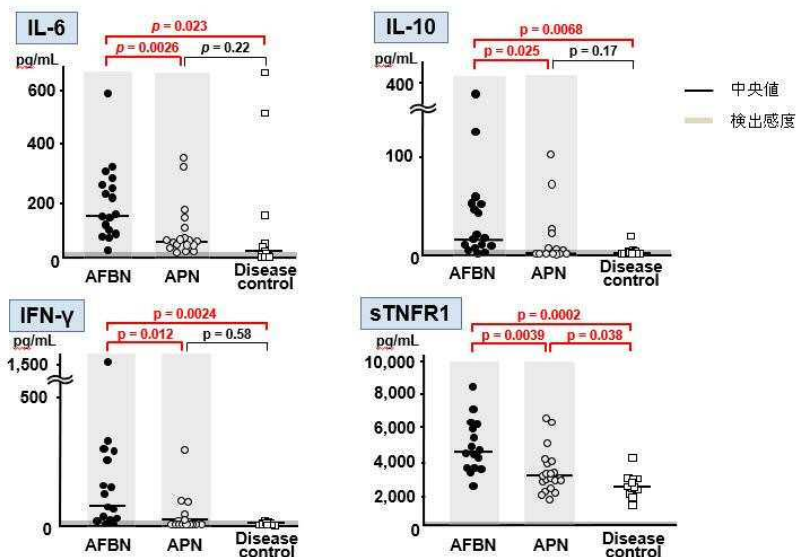
4. 研究成果

[1] AFBN, APN におけるさらなるサイトカイン解析

IL-6, IL-10, IFN- γ に加えて、新たに検討した sTNFR1 も APN 患児に比して AFBN 患児で有意な上昇を認めた (図 1)。

[2] 新たなバイオマーカーを加え、臨床データを集積する。

新たなバイオマーカーとして検討したフェリチン、可溶性 IL-2 レセプター、 β_2 MG には有意差はなかった。

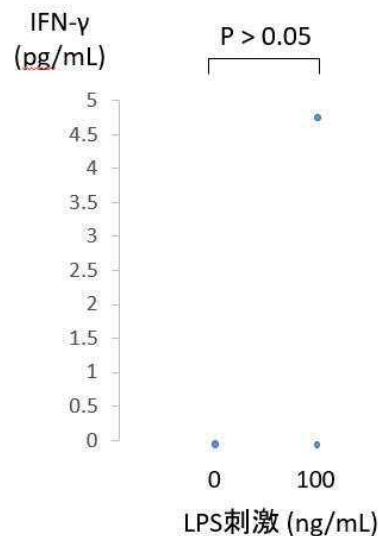


〈図 1〉 AFBN, APN におけるサイトカイン解析

[3] IFN- γ 産生細胞についての検討

(1) 末梢血単核球 (CD4+, CD8+, CD14+, CD56+/CD3 γ δ T 細胞) の細胞内 IFN- γ の発現において、各細胞とも AFBN と APN 間に有意差は認めなかった (AFBN 5 例, APN 7 例)。

(2) 腎培養細胞 (糸球体メサンギウム細胞) に LPS 刺激を行い、上清中 IFN- γ 濃度を CBA 法により測定した。LPS 0 ng/ml、100 np/ml で比較したところ、上清中 IFN- γ 濃度に有意差はみられなかった。以上から LPS 刺激では、IFN- γ はメサンギウム細胞からは産生されない可能性が高いと結論付けた (図 2)。



〈図 2〉 LPS 刺激によるメサンギウム細胞上清の IFN- γ 濃度

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mizutani M, Hasegawa S, Matsushige T, Ohta N, Kittaka S, Hoshide M, Kusuda T, Takahashi K, Ichihara K, Ohga S.	4. 巻 99
2. 論文標題 Distinctive inflammatory profile between acute focal bacterial nephritis and acute pyelonephritis in children.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cytokine	6. 最初と最後の頁 24-29
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cyto.2017.06.012. Epub 2017 Jul 3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Makoto Mizutani
2. 発表標題 Distinctive inflammatory profile of acute focal bacterial nephritis compared to acute pyelonephritis in children
3. 学会等名 The 9th Asian Congress of Pediatric Infectious Diseases (ACPID 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Makoto Mizutani
2. 発表標題 Distinctive cytokine profile between acute focal bacterial nephritis and acute pyelonephritis in children
3. 学会等名 The 14th Congress of Asian Society for Pediatric Research (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水谷 誠
2. 発表標題 急性巣状細菌性腎炎のサイトカインプロファイル ~急性腎盂腎炎と比較して~
3. 学会等名 第49回日本小児感染症学会
4. 発表年 2017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	松重 武志 (MATSUSHIGE Takeshi) (60528941)	山口大学・医学部附属病院・講師 (15501)	
研究 分担者	長谷川 俊史 (HASEGAWA Shunji) (90314806)	山口大学・大学院医学系研究科・教授 (15501)	