

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K17752

研究課題名(和文)末梢白血球遺伝子情報に基づく慢性腎臓病における睡眠覚醒障害の検討

研究課題名(英文) Analysis of sleep-wake disturbance in chronic kidney disease based on peripheral blood leukocyte gene profile

研究代表者

北島 信治 (Kitajima, Shinji)

金沢大学・附属病院・特任助教

研究者番号：70507061

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：睡眠覚醒障害や認知症は社会生活において克服すべき重要な課題である。慢性腎臓病(CKD:chronic kidney disease)患者において、睡眠覚醒障害や認知機能の低下を引き起こすことが知られている。しかしながら、その病態は十分に検討されていない。本研究では、病態の解明や治療標的分子の同定を目指した。CKD患者での睡眠覚醒障害や認知機能低下など脳の高次機能障害の診断法、ならびに血中マーカーの同定を複数の測定系を用いて評価した。その結果、複数のキラルアミノ酸が病態へ関与している可能性を示し、治療標的になりうることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られたキラルアミノ酸の知見は、CKD患者での睡眠覚醒障害や認知機能低下の診断や治療に寄与する可能性のみならず、糖尿病などの他疾患における同病態の解明ならびに治療法の確立に役立つ可能性がある。多くの症例に多大な恩恵を与えるとともに、人的あるいは経済的な社会への恩恵効果も大きいと考えられ、非常に重要な意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Sleep-wake disorders and dementia are important issues to be overcome in social life. In patients with chronic kidney disease (CKD), it is known to cause sleep-wake disturbance and cognitive decline. However, pathophysiology of sleep-wake disorders and dementia has not been fully investigated. In this study, we aimed to elucidate the pathology and identify therapeutic target molecules. We evaluated diagnostic methods for higher brain dysfunctions such as sleep-wake disorders and cognitive decline in CKD patients, as well as the identification of blood markers, using multiple measurement systems. As a result, we showed the possibility that chiral amino acids are involved in pathological conditions and could be therapeutic targets.

研究分野：慢性腎臓病

キーワード：慢性腎臓病 睡眠覚醒障害 不眠症 認知症 キラルアミノ酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

透析患者を含めた慢性腎臓病 (CKD: chronic kidney disease) 患者において、様々な睡眠覚醒障害の存在が示されている。生活習慣や心理的な要因のほか、CKD 患者では、尿毒症や貧血、代謝障害などの要因が報告されている。加えて、透析に関連したものでは、透析不足、透析によるサイトカイン産生や急激な電解質・酸塩基平衡の是正などの要因が示唆されている (Parker KP、他。Sleep Med Rev 2003)。それらの要因により、睡眠構築の変化をきたし、日中の傾眠傾向や夜間不眠のほか、レストレスレッグス症候群、周期性四肢運動障害などを引き起こすと考えられており、重要な問題となっている。最近の報告として、腎不全における睡眠時の呼吸障害と日中の傾眠を検討した研究結果が発表されている。この研究では透析患者を含めた CKD 患者において、無呼吸低呼吸指数ならびに低酸素血症の頻度が増加し、日中の眠気も強いとの結果が示されている (Roumelioti ME、他。CJASN 2011)。その他にも、慢性腎不全と夜間不眠などに関して、複数の報告もなされている。また睡眠覚醒障害と認知機能低下との関連、CKD や透析と認知機能低下との関連なども示唆されている。しかしながら、かかる病態の分子生物学的な機序など、詳細な病態は十分に検討されていない。

2. 研究の目的

これまで我々は、CKD 患者において終夜睡眠ポリソムノグラフィを用いた睡眠脳波解析と、末梢血白血球遺伝子のうち睡眠覚醒に関連した多数の遺伝子の発現について検討を行い、睡眠脳波解析に関して、CKD 群において睡眠サイクルの変化を認め、浅い睡眠であるレム睡眠の割合が増加し、深い睡眠であるノンレム睡眠の割合が減少していたことを確認した。また、既知の睡眠覚醒関連遺伝子に関して、末梢血白血球において覚醒物質オレキシンならびに複数のモノアミンレセプターの発現変化を捉えた。本研究課題では、これらの結果に基づき、さらなる病態解析や治療標的分子の同定のため追加検討を行うことを目的とした。追加検討では睡眠覚醒状態の評価だけでなく認知機能など脳の高次機能評価について、複数の測定系 (携行型睡眠脳波解析や機能的 MRI など) を用いて評価する。また近年になり測定系が確立し、脳神経系における役割も報告されてきたキララアミノ酸 (D-アミノ酸) の病態への関与も検討を行う。

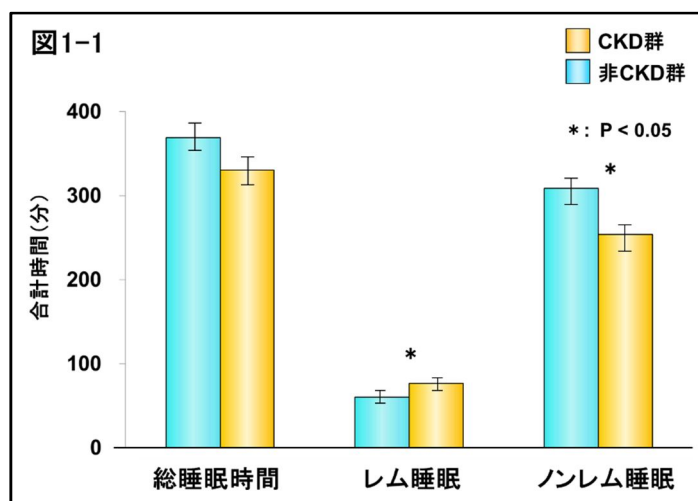
3. 研究の方法

終夜睡眠ポリソムノグラフィでの検討に加え、小型で負担の少ない睡眠脳波計を用いて睡眠の質、量などの評価を行う。評価項目は、睡眠の深さ (睡眠段階)、睡眠の分断化・覚醒反応、睡眠構築、睡眠効率などの評価を行い、腎機能との関連を検討する。加えて、脳の高次機能評価として機能的 MRI および知能指数検査 (WAIS; Wechsler Adult Intelligence Scale) を行い、追加検討する。血中および尿中のキララアミノ (D-アミノ酸) も測定し、病態への関与ならびに疾患マーカーとしての有用性の有無を検討する。

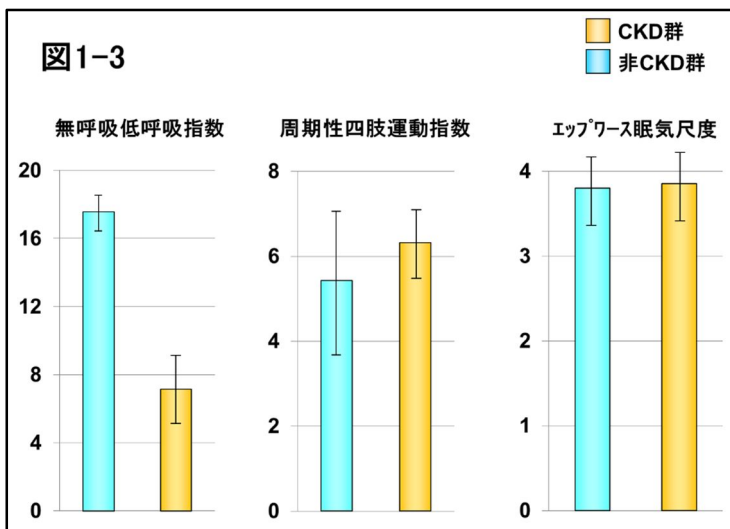
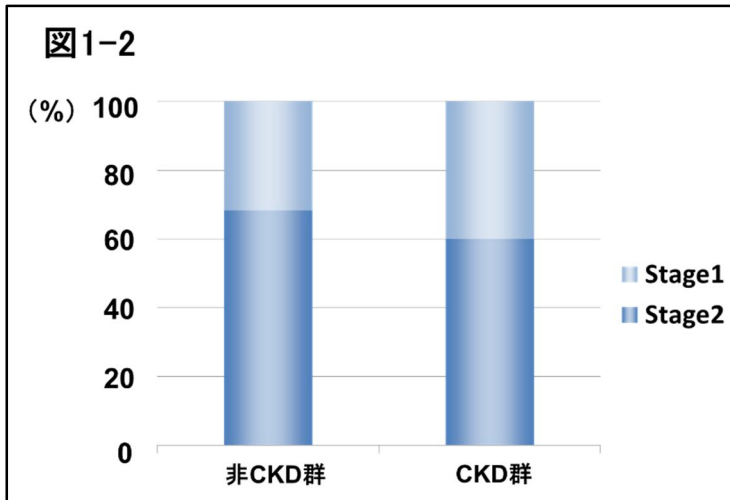
4. 研究成果

(1) CKD 症例における睡眠状態の変化; ポリソムノグラフィによる評価

高血圧症を背景とする CKD 9 例と非 CKD 9 例について終夜睡眠ポリソムノグラフィ解析を行った。CKD 群において総睡眠時間の短縮を認め、レム睡眠の増加とノンレム睡眠の減少を認めた (図 1-1)。この結果により睡眠の障害 (睡眠の質低下) の可能性が示唆された。

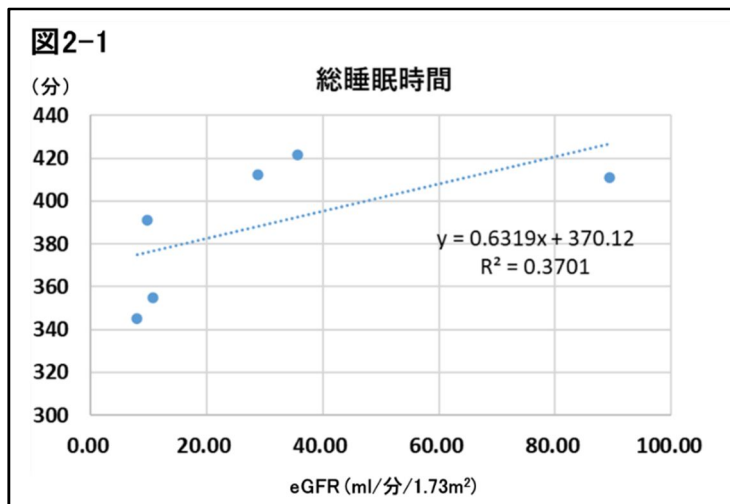


睡眠の質に関する追加検討ではノンレム睡眠でのステージ分類評価を行い、CKD 群で深い睡眠であるステージ 2 の割合が少ない傾向を認めた (図 1-2)。一方で、無呼吸低呼吸指数や周期性四肢運動指数、眠気の尺度評価において両群に差を認めなかった (図 1-3)。

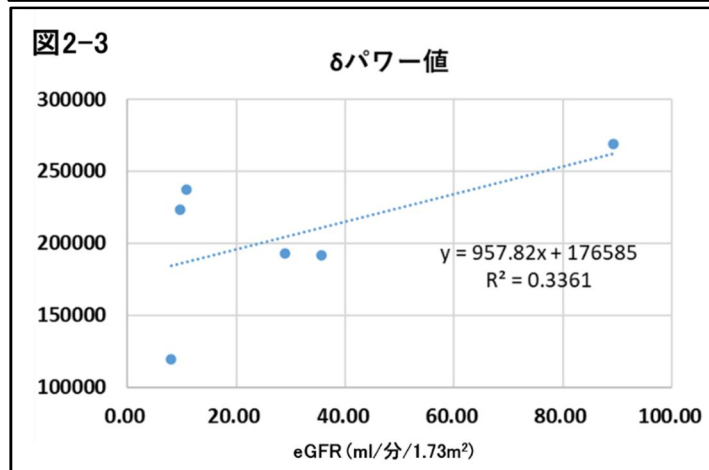
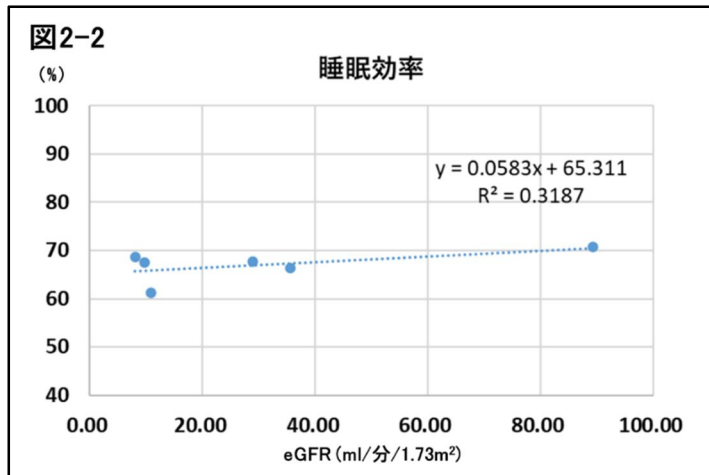


(2) CKD 症例における睡眠状態の変化; 簡易型睡眠脳波計による評価

現在までに 6 例 (CKD5 例、非 CKD1 例) の測定結果が判明し、検討を行った。腎機能の指標である推定糸球体濾過率 (eGFR) の低下に相関して総睡眠時間の減少傾向を認めた (図 2-1)。



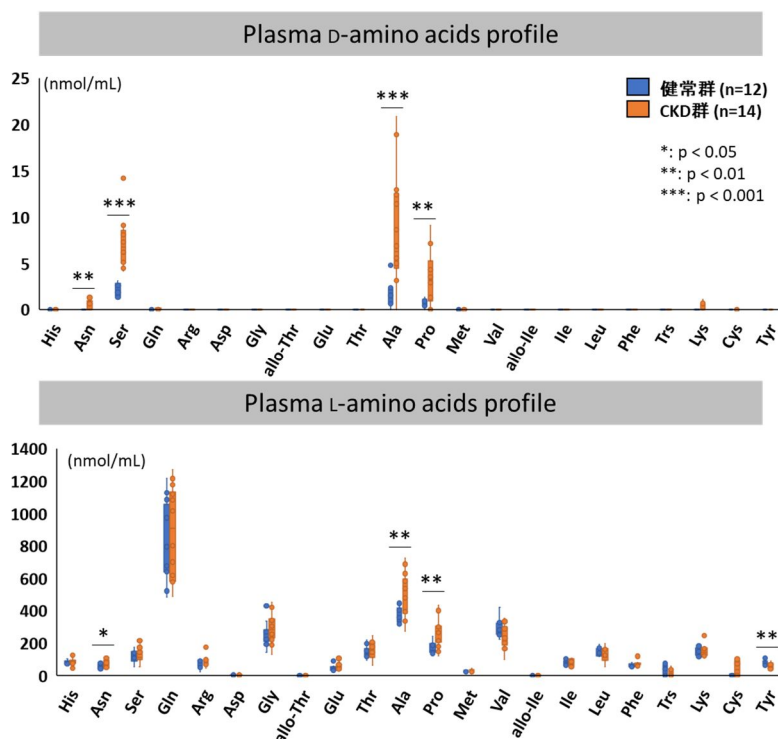
睡眠の質の検討では、eGFR の低下に相関して睡眠効率は悪化する傾向を認めた (図 2-2)。また、熟睡度や眠りの深さの指標である パワー値も eGFR の低下に相関して低下する傾向を認めた。一方で、終夜睡眠ポリソムノグラフィで認められたレム睡眠やノンレム睡眠の変化には一定の傾向は認めなかった。現在、測定を終了し、結果が未着の 6 例の結果を追加し、再評価を予定している。また、簡易睡眠脳波計を施行した 12 例について、機能的 MRI ならびに知能指数検査検査を施行しており、専門機関にて結果を評価中である。結果がそろい次第、睡眠状態ならびに認知機能を含めた脳の高次機能と腎機能との関連について追加検討の予定である。



(3) CKD 症例のアミノ酸プロファイルの検討

CKD 14 例と健常者 12 例における血中および尿中のアミノ酸プロファイル (D-アミノ酸、L-アミノ酸) の検討を行った。結果は、CKD 群において血中 D-アスパラギン (Asn)、D-セリン (Ser)、D-アラニン (Ala)、D-プロリン (Pro) および L-Asn、L-Ala、L-Pro は健常群と比較して増加していた (図 3)。一方で尿中 D-Asn、D-Ser、L-Asn および L-Ser は減少していた。これらにより CKD 例では、腎臓からの特定のアミノ酸排泄が低下し、血中のアミノ酸プロファイルが変化する可能性が示唆された (図は Iwata Y, Kitajima S 他。Kidney Dis 2023 参照)。

図3



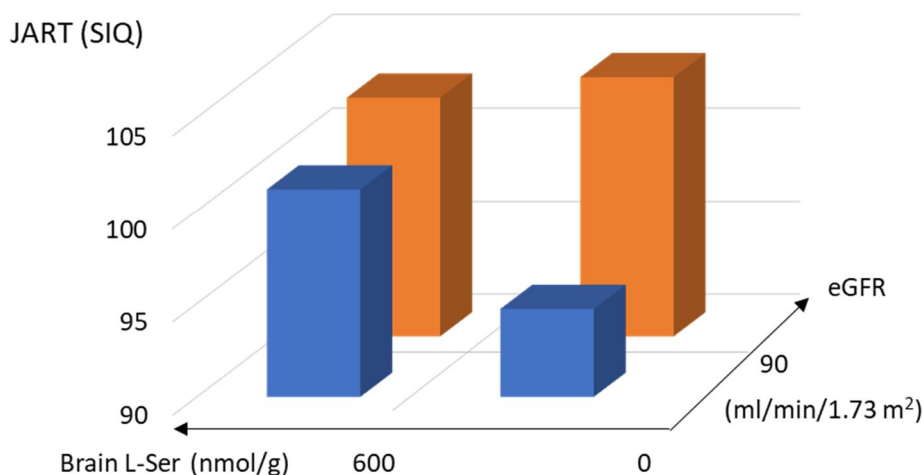
(4) 脳組織におけるアミノ酸発現の検討

脳腫瘍切除術を施行された 42 例の非腫瘍部を用いた検討を行った。L アミノ酸に関して、L-Ser の脳組織内濃度は腎機能と有意に相関していた(図は Iwata Y, Kitajima S 他。Kidney Dis 2023 参照)。腎機能低下の指標である血中クレアチニンの増加と推定糸球体濾過率 (eGFR) の減少は L-Ser の減少と相関を認めた。D アミノ酸に関しては D-ser との相関は認めず、一方で D-Asn は腎機能低下と逆相関を認めていた。

(5) CKD 症例における L-Ser と認知機能の検討

血中および脳組織アミノ酸プロファイルの結果より L-Ser に着目し、認知機能との関連を検討した。認知機能の指標として、知的機能の簡易評価法である JART スコアを用いて検討した。JART スコアと腎機能 (eGFR) ならびに脳組織 L-Ser 濃度との検討結果では、eGFR が 90 mL/min/1.73 m² 未満かつ脳組織 L-Ser が 600 nmol/g 未満の場合、より低い JART スコアを示した(図 4)。

図4



JART スコアは eGFR および脳組織 L-Ser 濃度ともに相関を認め、腎機能の低下および脳内 L-Ser 濃度低下はどちらも認知機能低下との関連が示唆された(図は Iwata Y, Kitajima S 他。Kidney Dis 2023 参照)。

(6) 脳組織におけるアミノ酸代謝酵素の検討

これまでにラットモデルにおいて、アミノ酸代謝酵素による脳組織アミノ酸プロファイルへの影響が報告されている。そこで追加検討として、今回用いた脳組織において得られた L-Ser 濃度の変化が脳組織における D アミノ酸酸化酵素 (DAO) およびセリンラセマーゼ (SRR) の影響が関与するかどうかについて、脳組織標本を用いて DAO および SRR の免疫組織染色を行い評価した。その結果、DAO 陽性細胞数ならびに SRR 陽性細胞数は、腎機能に相関を認めなかった。この結果により、腎機能による脳内 L-Ser 濃度の変化はこれらのアミノ酸代謝酵素活性の変化による結果は否定的と考えられた(図は Iwata Y, Kitajima S 他。Kidney Dis 2023 参照)。

(7) 糖尿病症例におけるアミノ酸プロファイルの検討

これまでに糖尿病が認知機能低下を悪化させるとの報告がなされている。そのため糖尿病合併 CKD における評価として、維持血液透析患者におけるアミノ酸プロファイルを糖尿病の有無、認知機能低下の有無により変化があるかどうかを検討した。糖尿病合併例 (DKD 症例) 非合併例 (非 DKD 症例) のどちらにおいても認知機能低下例では L-Ser の血中濃度が低下していた。D-Pro は DKD 例の認知機能低下例において血中濃度が増加していた。L-Ser に加えて、糖尿病合併例の CKD では D-Pro が認知機能低下と関連する可能性が示された(図は Iwata Y, Kitajima S 他。Kidney Dis 2023 参照)。

以上の結果のうち、(1)(2)に関しては、簡易睡眠脳波計施行の追加例および機能的 MRI と認知機能検査を加えた検討を行い今後、論文投稿を目指して準備中である。(3) ~ (7) の結果に関しては、一部をまとめ、論文投稿を行った(Iwata Y, Kitajima S 他。Kidney Dis 2023)。

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 2件）

1. 著者名 Iwata Yasunori, Nakade Yusuke, Kitajima Shinji, Wada Takashi et al.	4. 巻 9
2. 論文標題 Intra-Brain and Plasma Levels of L-Serine Are Associated with Cognitive Status in Patients with Chronic Kidney Disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Kidney Diseases	6. 最初と最後の頁 118 ~ 130
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000527798	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 -

1. 著者名 Nakade Yusuke, Iwata Yasunori, Sakai Norihiko, Mita Masashi, Nakane Maiko, Hamase Kenji, Suda Wataru, Toyama Tadashi, Kitajima Shinji, Hara Akinori, Shimizu Miho, Ogushi Chikako, Furuichi Kengo, Koshino Yoshitaka, Morita Hidetoshi, Hattori Masahira, Wada Takashi	4. 巻 12
2. 論文標題 Increased levels of oral Streptococcus-derived d-alanine in patients with chronic kidney disease and diabetes mellitus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-26175-1	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8件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 北島信治, 三宅 泰人, 遠山 直志, 原 章規, 岩田 恭宜, 坂井 宣彦, 清水 美保, 古市 賢吾, 和田 隆志
2. 発表標題 アフェレシス療法を施行した巣状分節性糸球体硬化症の長期予後
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 北島信治, 遠山 直志, 原 章規, 岩田 恭宜, 坂井 宣彦, 清水 美保, 古市 賢吾, 和田 隆志
2. 発表標題 LDL除去療法を施行したステロイド抵抗性ネフローゼ症候群の長期予後の検討
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 北島信治, 原 章則, 古市賢吾, 和田隆志
2. 発表標題 糖尿病性腎症に対するLDLアフェレンス療法
3. 学会等名 第39回日本アフェレンス学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北島 信治, 遠山 直志, 岩田 恭宜, 坂井 宣彦, 清水 美保, 古市 賢吾, 横山 仁, 和田 隆志
2. 発表標題 母体の腎臓からの視点; 妊娠高血圧関連腎症における臨床病理学的所見と腎予後の検討
3. 学会等名 第29回腎と妊娠研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北島 信治, 三宅 泰人, 遠山 直志, 原 章規, 岩田 恭宜, 坂井 宣彦, 清水 美保, 古市 賢吾, 和田 隆志
2. 発表標題 LDL除去療法を施行した巣状分節性糸球体硬化症の臨床的考察
3. 学会等名 第31回腎と脂質研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinji Kitajima, Taito Miyake, Tadashi Toyama, Yasunori Iwata, Norihiko Sakai, Miho Shimizu, Kengo Furuichi, Hitoshi Yokoyama, Takashi Wada
2. 発表標題 Clinicopathological manifestation in patients of idiopathic membranous nephropathy assigned to heterogeneous group with nephrotic syndrome
3. 学会等名 Kidney week 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北島 信治, 清水 美保, 古市 賢吾, 横山 仁, 和田 隆志
2. 発表標題 ネフローゼ症候群で発症し電顕分類混合型を呈した特発性膜性腎症の腎予後の検討
3. 学会等名 日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群に対するアフェレンス療法の有用性
2. 発表標題 北島信治, 三宅泰人, 遠山直志, 原 章則, 岩田恭宜, 坂井宣彦, 清水美保, 古市賢吾, 和田隆志
3. 学会等名 日本アフェレンス学会学術総会
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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------