

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08696

研究課題名(和文)ポドサイト細胞生物学による特発性ネフローゼ症候群の鑑別診断法の確立

研究課題名(英文) Establishment of differential diagnostic method for idiopathic nephrotic syndrome utilizing podocyte cell biology

研究代表者

小林 靖子 (Kobayashi, Yasuko)

群馬大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60451720

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ネフローゼ症候群は、腎臓で尿をこし出す「糸球体」という血管でできた装置から血液中のタンパク質が尿中に大量に漏れ出してしまう病気です。糸球体係蹄壁の透過性を高める因子の存在が示唆されてきましたが、未だ特定されていません。ステロイド治療に反応するタイプと反応しないタイプがあり、発症時に臨床所見からこれを判別することは困難です。この研究では株化ヒト糸球体上皮細胞を患者血清で刺激し、細胞に発現する分子の活性化の差異により、上記のタイプを見分ける方法を確立しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究成果により、特発性ネフローゼ症候群の発症早期にステロイド反応性予測を行い、病初期から適切な治療選択を可能にすることで、ステロイド療法による副作用を抑え、より有効性が期待される免疫抑制薬を早期に選択することが可能となることが示唆されました。

研究成果の概要(英文)：Nephrotic syndrome is a disease in which a large amount of protein in the blood leaks into the urine from a spherical body of capillaries called "glomeruli" that filtrate urine from blood in the kidneys. The unknown factors that increase the permeability of the glomerular capillary wall has been suggested, but has not been identified, yet. There are two types of nephrotic syndrome patients who respond to steroid treatment, and who do not. It is difficult to distinguish these two from clinical findings at the time of onset. In this study, we established a method to be able to distinguish the steroid response at the disease onset utilizing healthy human podocyte cell line stimulated with patients' serum by the level of a molecular activation expressed in the cell line.

研究分野：小児腎疾患

キーワード：特発性ネフローゼ症候群 ステロイド反応性 予後予測 ポドサイト細胞株

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

末期腎不全を来す慢性腎疾患(CKD)罹患率の増加は医療経済的観点からも世界的な懸念になっている。進行性のCKDを、濾過障壁の破綻に始まる糸球体全硬化によって末期腎不全に至らしめないためには、早期発見や病因の究明、効果的な治療法の開発が急務であった。

大量蛋白尿を特徴とする特発性ネフローゼ症候群はステロイド治療に反応するステロイド感受性(SSNS)と、反応しないステロイド抵抗性(SRNS)に大別され、SRNSでは腎予後が不良である。いずれも、何らかの液性因子が糸球体血管係蹄壁の透過性を亢進させ蛋白尿を惹起すると考えられているが、この因子はいまだ同定されていない。したがって、特発性ネフローゼ症候群発症時に両者を判別する検査法はなく、4~6週間の最大量のステロイド治療に対する反応性によって判別している。そのため、この間に、SRNS患者では有効性の高い治療を開始する時期が遅れるばかりでなく、原疾患、及び、ステロイド治療による重篤な合併症を発症するという問題があった。

2. 研究の目的

本研究では、発症時患者血清で刺激した株化糸球体上皮細胞に発現する分子の活性化の程度によって発症初期に二者の鑑別が可能であるかを明らかにし、早期に効果的な治療戦略の選択を可能にする検査法の確立を目的とした(図1)。また、この分子のシグナル伝達経路にある細胞調節因子活性化を測定する系を確立して、透過性因子を検出可能にすることで、透過性因子の決定と病因解明に寄与するスクリーニング系の確立を目的とした。

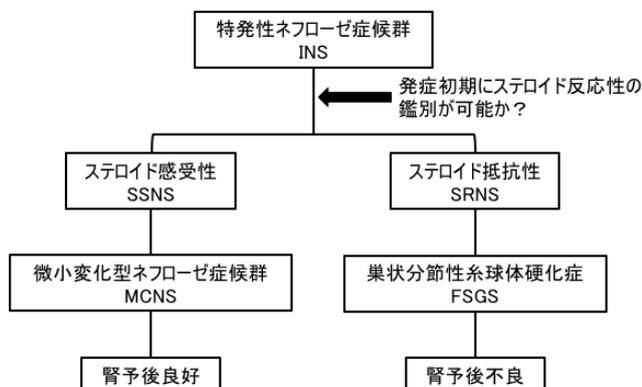


図1 本研究の目的

3. 研究の方法

分化培養した健常ヒトポドサイトセルラインをネフローゼ症候群発症時の患者血清で刺激し、健常ヒトポドサイト細胞株に発現する分子の活性化、及び、この分子のシグナル伝達経路にある細胞調節因子の活性化を測定した。

4. 研究成果

既存のコホート検体であるSRNS(n=9)とSSNS(n=14)それぞれの患者血清を用いて健常ヒトポドサイト細胞株の分子活性の差異を比較し、SRNS群で有意に分子活性が高いことを見出した。(図2)

また、上記の実験結果からROC曲線を作成したところ、AUCは0.8889、Youden indexで求めたカットオフ値は0.166(感度78%, 特異度93%)であ

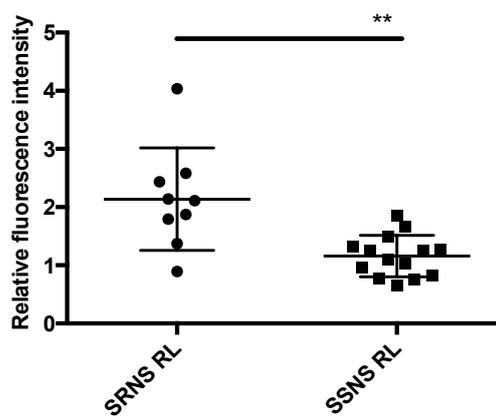


図2 SRNS、SSNS患者再発時(RL)血清刺激によるポドサイトに発現する分子活性化の差異
再発時SRNS患者血清刺激は再発時SSNS患者血清刺激に比べて有意に分子を活性化する。
SRNS:n=9, SSNS:n=14

った。この検査法を臨床応用することで、特発性ネフローゼ症候群の発症早期にステロイド反応性予測を行い、特に SRNS 患者ではステロイド療法による副作用を抑え、より有効性が期待される免疫抑制薬を早期に選択することが可能となることが示唆された。(図 3)

今後は、本検査法の臨床応用が可能か、前向き多施設共同研究により発症時の患者血清を収集し、検討を行う。また、シグナル伝達経路にある細胞調節因子の活性化は一定の傾向を示し、バイオマーカーとしての有用性を検討する必要がある。

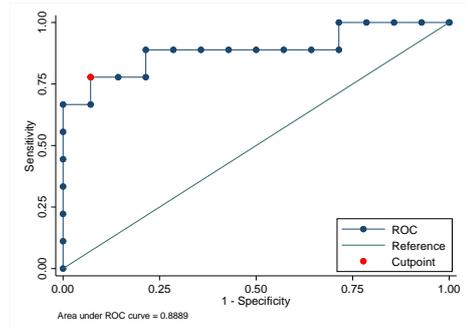


図 3 分子活性による ROC 曲線

再発時 SRNS 患者血清(n=9)、および、再発時 SSNS 患者血清(n=14)刺激による分子活性強度から作成した ROC 曲線。AUC=0.8889、カットオフ値=0.166 (感度 78%, 特異度 93%)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 小林 靖子(0039-2359)	4. 巻 272巻
2. 論文標題 【エビジェネティクスと疾患】各種疾患とエビゲノム異常 自己免疫疾患・アレルギー疾患(解説/特集)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 84-90
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Takagi Y, Miura K, Yabuuchi T, Kaneko N, Ishizuka K, Takei M, Yajima C, Ikeuchi Y, Kobayashi Y, Takizawa T, Hisano M, Tsurusaki Y, Matsumoto N, Hattori M	4. 巻 11
2. 論文標題 Any modality of renal replacement therapy can be a treatment option for Joubert syndrome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 462
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-80712-4	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 山田 治美, 小林 靖子, 池内 由果, 小笠原 聡, 高木 陽子, 武井 麻里子, 木暮 昌夫, 登丸 真由美, 荒川 浩一, 滝沢 琢己 (1341-5875)40巻 Page腹膜透析を導入した7歳男児に対するホスピタル・プレイ・スペシャリストの関わり プレイ・プレパレーションとメディカルプレイがもたらす効果(2020.07)	4. 巻 40
2. 論文標題 腹膜透析を導入した7歳男児に対するホスピタル・プレイ・スペシャリストの関わり プレイ・プレパレーションとメディカルプレイがもたらす効果	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本小児腎不全学会雑誌	6. 最初と最後の頁 331-334
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Yoko Takagi, Yasuko Kobayashi, Ayako Hirakata, Mariko Takei, Satoshi Ogasawara, Chikage Yajima, Yuka Ikeuchi, Akira Matsumoto, Yoshiyuki Ogawa, Hiroshi Handa, Masanori Matsumoto, Hirokazu Arakawa and Takumi Takizawa	4. 巻 12
2. 論文標題 Systemic lupus erythematosus presenting with thrombotic thrombocytopenic purpura at onset: a case report	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front. Pediatr.	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fped.2022.931669	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5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小林靖子, ウェルシュ・ガビン, サリーム・モイン.
2. 発表標題 シレンジタイドはFSGS患者血清刺激によるポドサイト機能異常を抑制する
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林 靖子
2. 発表標題 末梢血T細胞のDNAメチル化にみる微小変化型ネフローゼ症候群
3. 学会等名 九州ネフロロジー研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 小林 靖子
2. 発表標題 miR-886遺伝子の DNAメチル化および発現と微小変化型ネフローゼ症候群との相関
3. 学会等名 第31回日本エピジェネティクス研究会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Takagi Y, Kobayashi Y, Takei M, Ikeuchi Y, Yajima C, Nozu K, Iijima K, Takizawa T
2. 発表標題 A case of PLCE1 mutation and diffuse mesangial sclerosis with rapid progression to end-stage kidney disease
3. 学会等名 14th Asian Congress of Pediatric Nephrology (ACPN) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 江田 陽一, 小林 靖子, 池内 由果, 高木 陽子, 武井 麻里子, 大津 義晃, 濱島 恵美, 田部井 容子, 島田 正晴, 西村 秀子, 大竹 明, 滝沢 琢己
2. 発表標題 3歳児健康診査の蛋白尿を契機に診断に至り腎生検を行なったMELASの1例
3. 学会等名 第124回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2021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
研究協力者	矢島 千景 (Yajima Chikage)	群馬大学・大学院医学系研究科・大学院生 (12301)	
研究協力者	高木 陽子 (Takagi Yoko) (70813517)	群馬大学・大学院医学系研究科・大学院生 (12301)	
研究協力者	池内 由果 (Ikeuchi Yuka) (70420114)	群馬大学・医学部附属病院・助教 (12301)	

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
---------	---------