

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08617

研究課題名(和文)慢性腎臓病の進展・予後予測におけるTNF受容体の血中動態の解明

研究課題名(英文)Blood kinetics of TNF receptors for predicting CKD progression

研究代表者

合田 朋仁 (Gohda, Tomohito)

順天堂大学・医学部・先任准教授

研究者番号：20365604

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：はじめに、腎機能低下時における血中TNF受容体の上昇機序は腎臓からの排泄低下ではなく全身からの産生亢進に伴うものであることを明らかにした。次に、血中TNF受容体の測定は糖尿病合併慢性腎臓病のみならず、非糖尿病慢性腎臓病でも腎予後予測マーカーになりうることを明らかにした。最後に、高脂肪食で肥満を誘導したマウスでは、プログラヌリン欠損は腎の炎症悪化および脂肪組織を含む全身の炎症改善させることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病の進展抑制には腎機能低下をきたしやすい患者を早期発見して治療することは極めて重要である。血中TNF受容体濃度の測定は、糖尿病合併の有無にかかわらず、CKD患者の予後予測に有用なことを明らかにした点で臨床的に意義がある。また、血中TNF受容体濃度の上昇機序のみならず、TNF-TNF受容体経路を介した炎症機序にプログラヌリンが関与していることを明らかにした点でも重要な知見である。

研究成果の概要(英文)：1. The pattern of fractional excretion TNFRs showed that an increase in serum TNFRs might result from their increased systemic production, including in the kidney, rather than being a simple reflection of GFR decline.
2. The elevated baseline level of TNFR was a strong predictor of 30% eGFR decline even in chiefly non-diabetic CKD patients with asymptomatic hyperuricemia.
3. PGRN deficiency was associated with both exacerbated renal inflammation and decreased systemic inflammation, including that in the adipose tissue of mice with high fat diet-induced obesity.

研究分野：腎臓病

キーワード：糖尿病性腎臓病 慢性腎臓病 TNF プログラヌリン 炎症

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病 (CKD) の腎予後を早期かつ正確に行うには、既存のアルブミン尿のみでは困難なため、新規マーカーにより病態との関与を明確にする必要がある。この課題に対して、CKD 進展に TNF 関連分子が関わることを立証してきた。しかし、TNF 受容体 (TNFRs: TNFR1&2) 発現を規定する因子は明確でない。

2. 研究の目的

TNFRs の臨床応用を目指し、(1) 血中 TNFRs の上昇機序、及び制御因子の同定、(2) 新規 TNFRs リガンドである Progranulin (PGRN) が TNFRs 発現制御に関与しているか検証を行う。本研究結果により、CKD 患者の腎予後を早期かつ正確に行い、タイムリーに治療を行うことで、今なお増加し続けている末期腎不全患者数の減少を目指す。

3. 研究の方法

腎機能正常の 2 型糖尿病患者 (GFR ≥ 90 、GFR 60-89 mL/分/1.73 m²、各 250 名) を対象に尿中・血中 TNFRs 及びクレアチニン濃度を測定し、TNFR 排泄率 (FE: fractional excretion) を推算する。FE TNFRs と GFR の相関関係を確認することにより、血中 TNFRs が上昇する機序が腎臓からの排泄低下あるいは腎臓含む全身からの産生亢進なのかを明らかにする。また、尿中 TNFRs は血中 TNFRs 同様、早期腎障害患者における GFR やアルブミン尿を規定する因子になりうるのか、微量アルブミン尿の存在あるいは GFR < 90 mL/分/1.73m² を従属変数としたロジスティック回帰分析を行い検証する。

第 3 期 CKD を伴う高尿酸血症を対象としたフェブキソスタット製剤を用いたランダム化並行群間比較試験 (Feather study) のストック血清 (約 400 名) を用い、TNFRs 濃度を測定する。フェブキソスタット治療前と治療 12 週後の TNFRs 変化量 (12 週間の治療で尿酸値は既に低下しており、以降はプラトーで推移するため) が腎予後を予測するか Cox 比例解析を行い、高尿酸血症治療薬が TNFRs の制御因子になるか検証する。

TNFR のリガンドでもある PGRN は組織や病期により炎症・抗炎症にも作用することが報告されている。申請者は、PGRN KO マウスに高脂肪食を負荷した肥満モデルでは野生型と比較して、腎臓の TNF 関連分子や炎症マーカーの発現は亢進し、アルブミン尿も増加することを確認している。これらの PGRN による腎保護効果は、糖尿病、尿細管間質障害など各種腎疾患モデルでも認められるか検証する。

4. 研究成果

腎機能正常の 2 型糖尿病患者 499 人の検討では、血中・尿中 TNFRs (TNFR1, R2) は各々、アルブミン尿と正の相関 (TNFR1, $r=0.37$; TNFR2, $r=0.30$)、eGFR (TNFR1, $r=-0.39$; TNFR2, $r=-0.39$) とは負の相関を認めた。相関係数は、いずれとも尿中より血中 TNFRs が高値であった。また、アルブミン尿の存在、あるいは腎機能軽度低下 (eGFR < 90 mL/分/1.73 m²) を従属変数にした場合、他の関連因子で補正しても血中 TNFRs は独立した規定因子であった。一方、尿中 TNFRs はアルブミン尿の存在のみの規定因子であった。よって、尿中より血中 TNFRs の方が、早期腎障害を反映する可能性が示唆された。また、TNFRs 排泄率 (FeTNFR) と eGFR の間には相関は認めないこ

とから、腎機能低下時に血中TNFRsが上昇する原因としては腎臓からの排泄低下というより、腎臓あるいは全身からの産生亢進に伴うものであることを明らかにした(表1)。

高尿酸血症を合併した第3期慢性腎臓病患者を対象に高尿酸血症治療薬であるフェブキソスタットを用い、腎機能への影響を評価したランダム化並行群間比較試験 (Feather study) のストック血清 (約400名) を用い、血中TNF受容体濃度をELISAで測定した。主研究結果では高尿酸血症治療薬であるフェブキソスタット治療開始後、12週後には尿酸値は約4mg/dLに半減し、それ以降も尿酸低下は持続していた。一方、治療12週後の血中TNF受容体濃度は、治療開始前とほぼ変化は認められなかった。これらの結果より、高尿酸血症治療薬であるフェブキソスタットは慢性腎臓病患者におけるTNF受容体濃度の制御因子ではないことが明らかにされた。また、治療開始前の血中TNF受容体濃度は、一般的な腎予後予測因子である治療開始時の糸球体ろ過量 (GFR) や蛋白尿で補正しても、ベースラインから30%GFR低下を予測する独立した予測因子であった(図1)。これまで、主に糖尿病患者における血中TNF受容体濃度は腎予後 (腎機能低下) 予測に有用であるとの報告は多くなされていたが、糖尿病非合併のCKD患者においては十分なエビデンスはなかった。本研究結果は、糖尿病非合併のCKD患者においても血中TNF受容体濃度が高値の場合には、将来の腎機能低下を予測することを証明した点において新規性があると思われる。

PGRN KOと野生型(WT)マウスに各々、通常食(SD)と高脂肪食(HFD)を8週齢から投与し、20週齢時に屠殺して評価した。アルブミン尿、尿細管障害マーカー、腎の炎症性サイトカインmRNAは、WT-HFDよりKO-HFDで高値だった。一方、体重、尿細管空胞化、全身・脂肪組織の炎症は、WT-HFDよりKO-HFDで低値だった。腎のメガリン発現は食事の種類にかかわらず、WTよりKOで低値であった。また、マウス尿細管細胞をTNF- α あるいはsiRNAでPGRNをノックダウンするとメガリンの発現は低下した。PGRN欠損は、腎の炎症悪化、全身・脂肪組織炎症の改善と関与しており、KO-HFDの尿細管空胞化改善の一部に尿細管でのメガリン発現低下が関与していることを明らかにした。

(図1)

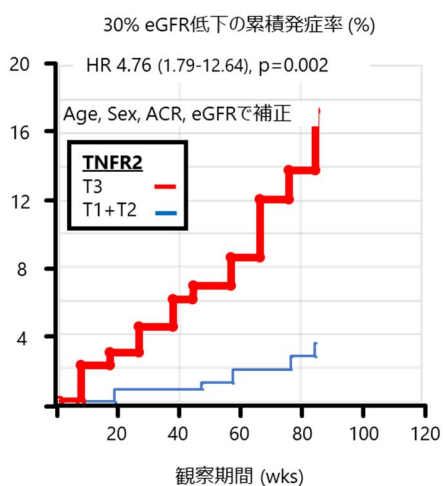


表1

	eGFR \geq 90 (n=251)	eGFR 60-89 (n=248)	P
血中TNFR1 (pg/mL)	1356 (1081, 1602)	1614 (1290, 2015)	<0.0001
血中TNFR2 (pg/mL)	2886 (2305, 3469)	3395 (2806, 4256)	<0.0001
尿中TNFR1 (ng/gCr)	2541 (1688, 3742)	3008 (2011, 4474)	0.0008
尿中TNFR2 (ng/gCr)	4539 (3296, 6687)	5834 (4070, 7920)	<0.0001
FE TNFR1 (%)	1.30 (0.97, 1.93)	1.41 (0.95, 2.11)	0.27
FE TNFR2 (%)	1.15 (0.82, 1.59)	1.25 (0.90, 1.76)	0.09

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Gohda Tomohito, Yanagisawa Naotake, Murakoshi Maki, Ueda Seiji, Nishizaki Yuji, Nojiri Shuko, Ohashi Yasuo, Ohno Iwao, Shibagaki Yugo, Imai Naohiko, Iimuro Satoshi, Kuwabara Masanari, Hayakawa Hiroshi, Kimura Kenjiro, Hosoya Tatsuo, Suzuki Yusuke	4. 巻 8
2. 論文標題 Association Between Kidney Function Decline and Baseline TNFR Levels or Change Ratio in TNFR by Febuxostat Chiefly in Non-diabetic CKD Patients With Asymptomatic Hyperuricemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Medicine	6. 最初と最後の頁 634932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmed.2021.634932	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 Murakoshi Maki, Gohda Tomohito, Adachi Eri, Ichikawa Saki, Hagiwara Shinji, Suzuki Yusuke	4. 巻 11
2. 論文標題 Differential organ-specific inflammatory response to progranulin in high-fat diet-fed mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-80940-8	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 Gohda Tomohito, Kamei Nozomu, Kubota Mitsunobu, Tanaka Kanako, Yamashita Yoshinori, Sakuma Hiroko, Kishida Chiaki, Adachi Eri, Koshida Takeo, Murakoshi Maki, Hagiwara Shinji, Funabiki Kazuhiko, Ueda Seiji, Suzuki Yusuke	4. 巻 12
2. 論文標題 Fractional excretion of tumor necrosis factor receptor 1 and 2 in patients with type 2 diabetes and normal renal function	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 382 ~ 389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13351	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 Murakoshi Maki, Gohda Tomohito, Sakuma Hiroko, Shibata Terumi, Adachi Eri, Kishida Chiaki, Ichikawa Saki, Koshida Takeo, Kamei Nozomu, Suzuki Yusuke	4. 巻 13
2. 論文標題 Progranulin and Its Receptor Predict Kidney Function Decline in Patients With Type 2 Diabetes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 849457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fendo.2022.849457	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 Gohda Tomohito, Murakoshi Maki	4. 巻 23
2. 論文標題 Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors-Miracle Drugs for the Treatment of Chronic Kidney Disease Irrespective of the Diabetes Status: Lessons from the Dedicated Kidney Disease-Focused CRENDENCE and DAPA-CKD Trials	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 13749 ~ 13749
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms232213749	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6件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 合田朋仁 村越真紀 上田誠二 木村健二郎 細谷 鈴木祐介
2. 発表標題 高尿酸血症合併CKD患者においてフェブキソスタットが血中TNF受容体濃度に及ぼす影響
3. 学会等名 第64回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村越真紀 岸田千晶 作間宏子 足立恵理 越田剛生 上田誠二 合田朋仁 鈴木祐介
2. 発表標題 血中TNF受容体濃度は日本人2型糖尿病患者においても腎予後を予測する
3. 学会等名 第64回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 足立恵理 岸田千晶 作間宏子 越田剛生 村越真紀 上田誠二 合田朋仁 鈴木祐介
2. 発表標題 尿細管間質線維化モデルにおけるProgranulinの役割
3. 学会等名 第64回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 合田朋仁 岸田千晶 作間宏子 足立恵理 越田剛生 村越真紀 上田誠二 鈴木祐介 亀井望
2. 発表標題 2型糖尿病の腎機能低下時における血中TNF受容体濃度上昇機序の解明
3. 学会等名 第35回日本糖尿病学会併症学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 合田朋仁
2. 発表標題 糖尿病性腎臓病進展を予測するバイオマーカー
3. 学会等名 第54回糖尿病学の進歩（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 亀井望 合田朋仁 吉田里穂 稲垣早織 宮原弥恵 久保田益亘 山下芳典 鈴木祐介
2. 発表標題 血中TNFRsは尿中TNFRsよりも2型糖尿病における早期腎障害を反映する
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 富野康日己 和田隆志 合田朋仁	4. 発行年 2021年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 270
3. 書名 糖尿病性腎臓病の病態と治療	

〔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
---------	---------