

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K18141

研究課題名（和文）末期腎不全における皮膚色素沈着原因物質の同定と除去カラムの開発

研究課題名（英文）Identification of substances causing skin pigmentation in end stage renal failure and development of removal column

研究代表者

丸山 雄樹（Maruyama, Yuki）

岡山大学・大学病院・医師

研究者番号：00803850

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：末期腎不全患者において必ず生じる皮膚合併症（色素沈着・乾燥・痒み）は患者のQoLに影響を与える重要な病態である。生体腎移植により色素沈着は速やかに改善することから、一般的な色素沈着物質メラニンではない原因物質が想定されるが、特定した報告はなく、本研究ではプロテオーム解析による網羅的な同定を目指した。

術後1か月での皮膚明度は術前と比較し、顔面、上腕、下腿で改善を認めた。腹部においても有意ではないものの改善傾向を認めた。プロテオーム解析では、腎移植後にケラチン・ファミリーのtype I, type IIやElongin-B、AMBIP、PEBP-4等の発現が低下する一方、FAM98Cの発現上昇がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢社会となった日本では、慢性腎臓病から、腎不全に至る患者が年々増加している。本邦では透析患者約33万人に対して腎移植数は少なく、透析患者の生産力の維持や、高齢者の自立が求められており、透析患者のQoL改善は社会的にますます重要となる。

本研究ではQoL低下をもたらす皮膚色素沈着物質を腎移植前後の皮膚検体を用いたプロテオーム解析を行い、網羅的に解析した。原因物質として複数のタンパクが同定できており、今後さらなる研究を行い、除去法を策定することで、腎不全患者のみならず、健常人の皮膚色・保湿に発展していける可能性がある。

研究成果の概要（英文）：On end-stage renal failure, skin complications (hyperpigmentation, dryness, itching) are an important condition affecting the patient's QoL. These skin pigmentation improves after living donor renal transplantation. Thus, a causative agent other than melanin, a common pigmentation agent, is assumed, however there is no report which identified. In this study, we aimed for comprehensive identification by proteome analysis.

One month after surgery, skin brightness was improved on the face, upper arms, and lower legs compared to the preoperative level. A non-significant improvement was also observed in the abdomen. Proteome analysis showed that the expression of keratin family members such as type I, type II, Elongin-B, AMBP, and PEBP-4 decreased after kidney transplantation, while FAM98C expression increased.

研究分野：腎移植、虚血再灌流障害

キーワード：腎移植 末期腎不全 皮膚色素沈着

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会となった日本では、慢性腎臓病から、腎不全に至る患者が年々増加している。末期腎不全の治療法として透析療法と腎移植の2種類があるが、本邦では透析患者約33万人に対して腎移植は2018年の一年間で合計1742例のみである。透析治療は週3回4時間以上拘束される事や皮膚症状・血管疾患などの様々な合併症による透析患者のQOLの大幅な低下だけでなく、それに伴う生産力の低下や、全医療費の約5%を消費していると見積られる費用等、国家財政への負担も大きい。人出不足、超高齢社会の日本において、より多くの労働可能な人材の活用、高齢者の自立が求められており、透析患者のQoL改善は社会経済的に重要性を増している。

末期腎不全においては皮膚の色素沈着や乾燥、痒みは必ず生じる合併症であるが、これまで積極的な検討や治療の対象とされてこなかった。透析患者では、 α -リポトロピンなどのメラニン産生刺激ホルモンの血中濃度が健常者の17倍になるという報告があるほか、分光測色計による明度の低下が血中クレアチニン、ミクログロブリン、インタクトPTHと有意に相関するが、BUN、尿酸、フェリチンとは相関せず、分子量1-3万の物質が原因物質と推定した報告等が散見されるが、透析患者の移植前後の皮膚を比べたデータはないのが現状である。腎移植レシピエントにおいては、ほとんどの症例で術後早期より皮膚の色素沈着および乾燥に関して、目に見える改善を認める(上図; 移植前後: 同一人物)。皮膚色が早急に改善する点から我々は、原因物質を一般的な色素沈着物質メラニンではなく、透析では除去できない尿毒症物質と想定している。予備実験で行った、マウス慢性腎不全モデル(5/6腎摘)においても、マウス皮膚切片のフォンタナ・マッソン染色では、両群のメラニン沈着に有意な差を認めなかった。これらより、皮膚の明度に深く関与する尿毒症物質を網羅的に解析することによって同定し、吸着・除去できる透析カラム作成することで、増加の一途を辿る透析患者のQoL改善を目指す。



2. 研究の目的

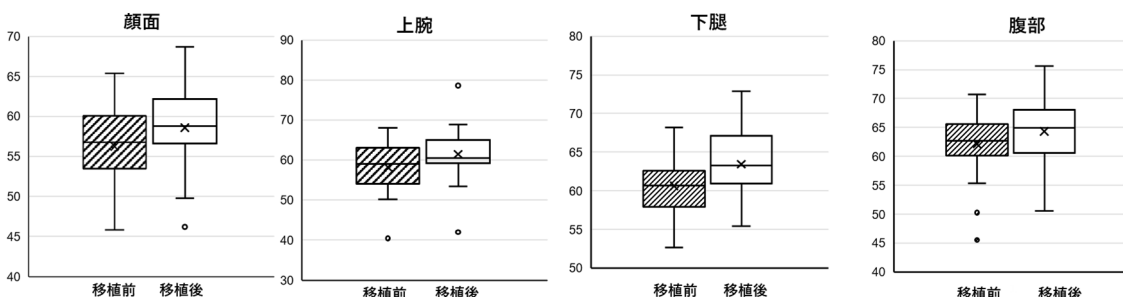
末期腎不全は老若男女問わず様々な疾患で陥る可能性があり、透析患者が腎移植件数を圧倒的に上回る現在において、透析合併症を減らし、QoLを維持する事は喫緊の課題である。その中でも、皮膚症状(色素沈着・乾燥・痒み)はQoLに影響を与える重要な病態であるにも関わらず、色素沈着の原因となる尿毒症物質を特定した報告はなく、未だ不明である。本研究の目的は末期腎不全における皮膚色素沈着原因物質を同定し、吸着カラム等の治療法の開発に繋げる事、それらが健常人においても美白や皮膚の潤滑環境に関与があるのかを模索する事である。まず腎移植前後の皮膚組織を用いて、iTRAQ / TM 試薬を用いた相対定量プロテオーム解析を行い、色素沈着原因物質の特定を目指した。

3. 研究の方法

本研究は、末期腎不全患者における皮膚色素沈着の原因物質を同定することを本幹とし、ヒト検体を用いたプロテオーム解析を行った。まず、移植前後で皮膚色が有意に改善することを示すために、分光測定器(コニカミノルタ社CR-400®)を用いて皮膚明度を解析した。皮膚色素沈着物質の網羅的解析には、移植前および移植後1か月時のプロトコール腎生検時にレシピエントから採取した皮膚検体を用いて、iTRAQ® / TMT™ 試薬を用いた相対定量プロテオーム解析を行った。皮膚検体からタンパク質抽出し、TCA沈殿・再溶解により、タンパク質濃縮、酵素消化・ラベル化試薬による標識を行いLC-MS/MS分析に供して、同定されたタンパク質をリスト化して比較定量を行った。解析は株式会社アンテグラルに受託した。

4. 研究成果

腎移植レシピエントの協力を得て皮膚明度および皮膚水分量の術前・術後推移の分光測定器を用いて測定を行った。術後1か月での皮膚明度は術前と比較し顔面、上腕、下腿で有意な上昇を認めた。腹部においても統計的有意差には達さないものの、明度が上昇する傾向を認めた。術



後 1 か月時点で、期間中に急性拒絶反応や透析再導入は見られなかった。皮膚の水分量においても改善する傾向を認めた。iTRAQ / TM を用いたプロテオーム解析では、倫理委員会承認後から、研究期間において透析歴が 14 年以上ある 3 名に対して、生体腎移植手術の皮膚切開時および、術後 1 か月プロトコル腎生検時に皮膚組織を採取し、解析を行った。腎移植後にケラチン・ファミリーの type (CK7), type (CK18) や Elongin-B、AMBP (Alpha-1-Microglobulin/Bikunin Precursor)、PEBP-4 (Phosphatidylethanolamine-binding protein 4 precursor) 等の発現が低下する一方、FAM98C (Family With Sequence Similarity 98 Member C) の発現上昇がみられた。

ケラチンはシステインを多く含み表層にアミノ酸が豊富に分布する中間系フィラメントで isoelectris point による分類では、酸性の Type ケラチンと塩基性～中性の Type ケラチンに分類される。ケラチンが移植前に多く発現しているという事は、長期透析患者の乾燥した比較的硬化した皮膚所見と合致するとともに、皮膚透過性にも影響を与えていると考えられた。AMBP や Elongin-B、PEBP-4 が皮膚色素沈着において果たす役割に関しては不明であり、今後、さらなる検討が必要と考えられる。

本研究を通して、これまで報告のなかった、末期腎不全における皮膚色素沈着原因物質の一端を解明することができた。今後は、これらのタンパクの機序に関してさらなる解析をすすめ、色素沈着治療薬や、除去カラムの開発へと発展させていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------