

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461214

研究課題名(和文)慢性腎臓病患者における慢性炎症惹起の解明と制御性T細胞を用いた新規治療戦略

研究課題名(英文) Investigation of chronic inflammation and strategy of new therapy using regulatory T cell in chronic kidney disease

研究代表者

加藤 佐和子 (Kato, Sawako)

名古屋大学・医学(系)研究科(研究院)・特任講師

研究者番号：80625757

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病(Chronic Kidney Disease: CKD)患者においては、慢性炎症が動脈硬化、易感染性に寄与し若年死亡率の上昇に関与している。この研究では2007年より名古屋大学腎臓内科教室で遂行している日本人コホート研究; NISE (Nagoya Immunity System in End-stage renal disease)研究の参加者から、血液を採取し炎症の惹起と予後を比較した。末梢血好中球/リンパ球比 (Neutrophil/lymphocyte ratio: N/L比)の上昇が透析導入後の心血管イベントの早期発症、発生頻度の増加に関与し、危険因子であることを証明した。

研究成果の概要(英文)：Patients with end-stage renal disease (ESRD), especially those with inflammation, are at an increased risk of premature mortality. We evaluated the association between the neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) and cardiovascular events in Japanese ESRD patients who had just started renal replacement therapy (RRT). A high NLR was associated with inflammation and the increased risk of cardiovascular disease. Since increasing neutrophil count reflects inflammation and lower lymphocyte counts may reflect general stress and malnutrition, NLR is hypothesized to be more sensitive at detecting patients at high risk for CVD.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：inflammation chronic kidney disease neutrophil lymphocyte mortality

## 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病(CKD)患者においては、免疫能低下と活性化が同時に存在し、栄養障害、慢性炎症、動脈硬化を惹起する複雑な免疫機能不全の関与が報告されている。我々は以前よりCKD患者の免疫能低下や慢性炎症の惹起の機構について、基礎的・臨床的両面から検討してきた。我々は、Dr. Lindholm, Dr. Stenvinkelら(Karolinska Institutet)の教室と国際共同研究を展開している。この腎臓病学教室では1995年MIA(Malnutrition, Inflammation, Atherosclerosis)研究が始められ、CKD患者において動脈硬化症の発症・増悪に炎症と栄養障害が深く関わっていることを証明しCKDの予後改善に大きな貢献をもたらしている。(Lindholm B. *Nat Rev Nephrol* 2010)。我々は、日本人のコホート研究NISE(Nagoya Immunity System in the End-stage renal disease)研究を2007年より開始した。CKD患者の発症・進行・重症化には、動脈硬化性疾患の合併を伴い慢性的な炎症反応が深く関与している。慢性的に持続する炎症(慢性炎症)については、その発症機序、診断法、予防法、治療法については十分に解明されていない。

共同研究者大阪大学免疫フロンティア研究センター坂口志文、大倉永也らは、様々な疾患でみられる炎症の慢性化機構に制御性T細胞(regulatory T cell; Treg)が関与していることを明らかにしてきた(Ohkura N. *Nat Immunol* 2011)。Tregはほとんどの免疫応答の抑制的制御に関与するリンパ球であり、加齢や慢性炎症を特徴とする自己免疫性疾患でTregの機能不全やTregへの分化異常を報告している。

## 2. 研究の目的

そこで我々は、CKD患者においても、Tregの機能不全やTregへの分化異常が免疫応答の抑制的制御不全を来とし、慢性炎症持続の一

因である可能性に着目し、慢性炎症を免疫学的な経路で制御することにより、動脈硬化を促進させない治療法の開発を試みようと考えた。また、尿毒症患者の高サイトカイン血症などにより不必要に活性化された免疫担当細胞は、実際、病原体が侵入した際の防御機能が悪く、易感染性に繋がっていると考えられている。Tregの機能不全のメカニズムが解明されることは、CKD患者の感染症合併率の改善も期待できるものである。

さらに、得られた結果から慢性炎症を免疫学的見地から制御することにより、動脈硬化や易感染性を抑制し、早期老化現象類似と言われる尿毒症患者の若年死亡率の改善を目指す治療戦略の開発を目的としている。

## 3. 研究の方法

我々は、CKD患者における慢性炎症と動脈硬化性疾患、感染症、予後を検討する前向きコホート研究NISE study(Nagoya Immunity System in the End-stage renal disease study)を2007年より遂行している。

(1)CKD患者のリンパ球とくにTreg分画について慢性炎症の関与を検討する。

(2)NISE研究のコホートのデータベースを利用し、動脈硬化や感染症の合併症、死亡率を関与があるか検討する。

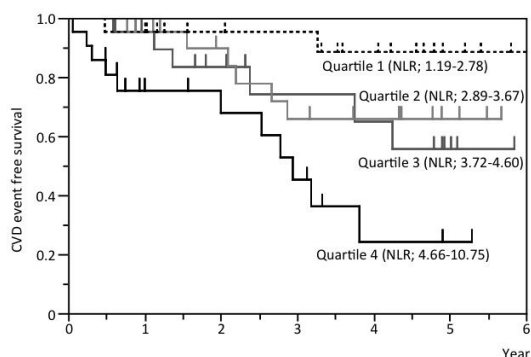
(3)CKD患者の慢性炎症の惹起の仕組みが明らかになり、どのような患者がhigh riskであるか特定される。また、免疫応答を利用した動脈硬化抑制治療、感染症治療法の開発への手がかりとなる。

## 4. 研究成果

2007年6月から2013年2月までに透析導入された日本人患者115例のなかから75歳以上、急性感染症、重症肝障害、またステロイドや免疫抑制剤投与中の症例を除外した

86 例(男 n=58、女 n=28、平均年齢 58 ± 11 歳)を対象とし、前向きコホート研究を行った。観察期間の中央値は 38.7 か月であった。腎障害の原疾患は糸球体腎炎(n=24)、腎硬化症(n=6)、糖尿病性腎症[(n=42):1 型糖尿病(n=4)、2 型糖尿病(n=38)]、多発腎嚢胞(n=4)、その他(n=2)、不明(n=8)であった。血液透析(Hemodialysis:HD)を開始した 79 例のなかで最も多いアクセスが自己血管動静脈内シャント(n=68)で、他に人工血管(n=5)、内頸静脈に透析用ダブルルーメンカテーテル挿入(感染兆候なし)(n=7)であった。7 例は腹膜透析(Peritoneal dialysis:PD)を開始し、透析導入時に PD カテーテルを挿入されていた。患者の栄養評価は主観的包括的アセスメント(subjective global assessment:SGA)にて行い、患者を A:正常、B:軽度/中等度栄養障害、C:高度栄養障害の 3 つのグループに分類した。リンパ球の解析をするにあたり、血液量算出等のために、慢性腎臓病患者の白血球分画を解析することにした。好中球/リンパ球比(neutrophil/lymphocyte ratio:N/L 比)は末梢血において容易に算出できる。腫瘍学や循環器分野の臨床においてイベントの予測や生存の推定に有用性の高い指標と報告されている。38.7 か月(range:1-68.9)観察期間中 9 症例が死亡(感染症 2 例、突然死 4 例、心筋梗塞 1 例、癌 1 例、肝不全 1 例)、8 症例の生存は不明(腎移植 2 例、転院 6 例)であった。また心血管イベントは心筋梗塞 4 例、狭心症 15 例、脳卒中 6 例、TIA(一過性虚血発作)3 例、末梢血管疾患 8 例、突然死 3 例、計 39 例であった。

(1) 透析開始から初回心血管イベントまでの期間(Figure 1)



好中球/リンパ球比の中央値は 3.72 であった。N/L 比が高値になるほど透析開始から初回心血管イベント発症までの期間は短かった(log rank test, 13.75, P=0.003)(Figure 1)。Cox 比例ハザードモデルによる相対危険度を検討すると、N/L 比が中央値より高い症例の危険度が最も高かった[RR:3.02(95%CI:1.34-7.43)]。年齢、性別、糖尿病で調整すると N/L 比は心血管イベントのリスクとされた[RR:2.54(95%CI:1.09-6.43)]。さらに N/L 比高値群ほど心血管イベントの相対危険度が高くなった

(2) N/L 比を用いた心血管イベント発症の予測

N/L 比が中央値より高い群の心血管イベント発症の補正相対危険度は 2.54 であった。N/L 比と CRP、IL-6、血清アルブミン、SGA カテゴリー値に対する補正相対危険度も測定した。Cox 比例ハザードモデルにて年齢、性別、糖尿病の有無を補正した。SGA カテゴリー-A 群において CRP、IL-6、血清アルブミンが中央値より高い群の相対危険度は [RR:1.39(0.61-3.24)]、[RR:1.12(0.51-2.59)]、[RR:0.87(0.35-2.09)] であり、CRP、IL-6、血清アルブミンが中央値より高い状態の SGA カテゴリー-B・C 群の相対危険度は [RR:1.72(0.58-7.33)] であった。

(3) 観察期間での累積心血管イベント  
観察期間内に 25 人の患者が心血管イベントを発症し(17 人が 1 回、4 人が 2 回、2

人が3回、2人が4回)、累積では39回のイベントを記録した。観察期間内の累積心血管イベント数はNLRが中央値より高い患者(23.0events 100 person-years)、NLRが中央値より低い患者群(6.8 events 100 person-years)でNLRが中央値より高い群で高かった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

1. Sawako Kato, Tomoko Abe, Bengt Lindholm, Shoichi Maruyama. Neutrophil/Lymphocyte ratio: A promising prognostic marker in patients with chronic kidney disease. Inflammation & Cell Signaling. 2:e683.2015 (査読有)

[学会発表](計 3 件)

1. Sawako Kato, Shoichi Maruyama, Bengt Lindholm, Yukio Yuzawa, Yoshinari Tsuruta, Seiichi Matsuo. Temporal Loss of Bone Mineral Density Is Associated with Cardiovascular Diseases in Japanese Patients Starting Renal Replacement Therapy. 48th Annual Meeting of the American Society of Nephrology. San Diego(USA) 2015/11/5
2. Sawako Kato, Shoichi Maruyama, Bengt Lindholm, Yukio Yuzawa, Yoshinari Tsuruta, Seiichi Matsuo. High Ferritin Level and Low Nutrition Status Predicts Higher Risk of Infection-Related Hospitalization in Incident Dialysis Patients: A Japanese Prospective Cohort Study. Kidney Week 2014. Philadelphia(USA) 2014/11/13
3. Sawako Kato, Shoichi Maruyama, Hirofumi Makino, Jun Wada, Takashi Uzu, Hisazumi Araki, Daisuke Koya, Keizo Kanasaki, Akira Nishiyama, Hiroyuki Kobori, Enyu Imai, Masahiko Ando, Yutaka Oiso, Seiichi Matsuo. Spironolactone improving intrarenal renin-angiotensin system activation in type 2 diabetic nephropathy patients with overt albuminuria. The 14th Asian Pacific Congress of Nephrology. 品川プリンスホテル(東京都港区) 2014/5/14-17
4. Sawako Kato, Bengt Lindholm, Yukio

Yuzawa, Seiichi Matsuo, Shoichi Maruyama. Neutrophil/Lymphocyte Ratio as a Predictor of Cardiovascular Events in Japanese Patients Starting Renal Replacement Therapy. Kidney Week 2013. Atlanta(U.S.A.) 2013/11/9

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

加藤 佐和子 (KATO, Sawako)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・特任講師

研究者番号：80625757

##### (2)研究分担者

丸山 彰一 (MARUYAMA, Shoichi)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：10362253

坪井 直毅 (TSUBOI, Naotake)  
名古屋大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：50566958

安田 宣成 (YASUDA, Yoshinari)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：60432259

湯澤 由紀夫 (YUZAWA, Yukio)  
藤田保健衛生大学・医学部・教授  
研究者番号：00191479  
(平成27年度)

佐藤 和一 (SATO, Waichi)  
藤田保健衛生大学・医学部・准教授  
研究者番号：90508920  
(平成25年度-平成26年度)