

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860689

研究課題名(和文) TLR9遺伝子の一塩基多型を用いたIgA腎症オーダーメイド治療の開発

研究課題名(英文) Development of the tailor-made medicine for IgA nephropathy by using the single nucleotide peptide of the Toll-like receptor 9 gene

研究代表者

佐藤 大介 (Sato, Daisuke)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：50621942

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：2004年から2009年に順天堂大学腎臓内科で腎生検によってIgA腎症と診断された患者から遺伝子解析に同意が得られた患者111名を対象とした。TLR9遺伝子の塩基多型(TT, CT, CC) 同定、臨床データの収集を行い予後との関連を検討した。腎生検時点の血清クレアチニン、蛋白尿、病理組織所見などはTT群とCT・CC群の間で有意な差は認められなかったが、腎機能低下速度をアウトカムとした多変量解析においてTT群はCT,CCの群よりも腎機能低下速度が早い傾向がみられた。本研究結果から、塩基多型の違いが腎機能低下速度を規定し、予後予測因子である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We conducted the retrospective cohort study to clarify the association between decline of renal function and the pattern of single nucleotide polymorphism (SNP) in IgA nephropathy (IgAN). We enrolled 111 IgAN patients who diagnosed from 2004 to 2009. We collected baseline characters and determined SNP (TT, CT, CC). Although the baseline characteristics of patients were not significantly different in each group, decline of renal function in patients with TT-SNP was faster than patients with CT/CC SNP in multivariate model. Present results suggested that TT-SNP can be a prognostic factor in IgAN.

研究分野：腎臓内科

キーワード：IgA腎症 TLR9 塩基多型 オーダーメイド治療

1. 研究開始当初の背景

IgA 腎症の病態機序については解明されていない点が多く、疾患特異的な治療はまだまだ存在しない。本邦においてはステロイドパルスに扁桃摘出を加えた治療（扁桃摘出療法）による効果が報告されており現在では主流となっているが、その効果は一様でなく糸球体メサンギウム領域に沈着する IgA (IgA1)あるいは IgA 免疫複合体の性状や免疫系によって生じる臨床病理像の heterogeneity によって生じると考えられている。この多彩な臨床病理像を解明するためには腎炎惹起性 IgA の産生や沈着に関わる因子を解明し、適切な介入を行うことが IgA 腎症の治療において最も重要である。

近年、自然免疫系で中心的な働きをする分子群である Toll-like receptor (TLR)の役割が様々な疾患で注目されている。IgA 腎症においても自然発症モデルマウスで上気道粘膜における TLR9 の活性化が腎炎惹起性 IgA の産生増加を介して腎炎の増悪に繋がること (Suzuki H et al, JASN 2008) や、ヒト扁桃での TLR9 の発現が高い群では扁桃摘出のみで血清 IgA 値が大きく減少する症例や血尿が改善する症例が多くみられること (Sato D et al, NDT 2011)から、IgA 腎症の発症・進展に TLR9 が関与していると考えられ、IgA 腎症患者の TLR9 遺伝子の rs352140 における一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) TT は他の塩基多型 (CC,CT)と比較し組織学的重症度が異なること (Suzuki H et al, JASN 2008) から、TLR9 遺伝子の rs352140 における一塩基多型は、IgA 腎症の heterogeneity を規定する重要な因子であることが考えられた。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえ、本研究は IgA 腎症患者の TLR9 遺伝子の塩基多型および臨床データを収集し、遺伝子多型と腎機能低下速度について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

対象患者：

2004 年から 2009 年の間に順天堂大学腎臓内科において IgA 腎症と診断され、扁桃摘出やステロイドパルスなどの治療開始後 1 年以上を観察し得た患者を対象とした。

要因の測定：

Applied Biosystem 社より購入したプローブ (rs352140) を用いて遺伝子多型の genotyping (TT,CT,CC)を行った。

臨床データ：

当院診療録より血清クレアチニン値、尿蛋白定性・定量、尿潜血反応、沈渣など、組織所見、治療内容（扁桃摘出の有無、ステロイドパルスの回数、ステロイド内服量および期間、抗血小板薬、抗凝固薬、降圧薬内服の有無な

ど)についてのデータ収集を行った。

評価項目：

主要評価項目

主要評価項目は血清クレアチニン 1.5 倍化した。血清クレアチニンは腎生検時点から外来受診毎に測定を行い、経過中に腎生検時の血清クレアチニン値*1.5 を達成するか否かについて評価を行った。

副次的評価項目

副次的評価項目として腎機能低下速度 (1/S-Cre: 外来受診時に測定した血清クレアチニン値の逆数(1/S-Cre)を応答変数、経過年数を説明変数とした場合に最小化自乗法で計算される 係数)を用いた。

解析方法：

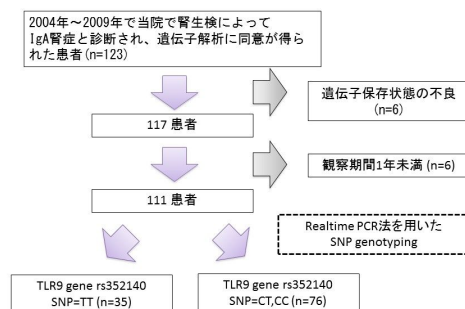
腎生検時のデータについて、連続変数で正規性が確認出来た項目については平均値、標準偏差を、正規性が確認出来なかった項目は中央値、IQR を、順序変数・二値変数については実数と割合をそれぞれ記述した。腎生検時点における TT 群と CT/CC 群の性別、年齢、診断までの期間、収縮期血圧、血清アルブミン、血清クレアチニン値、eGFR、予後予測スコア、病理組織学的分類、腎機能低下速度(1/S-Cre)などについて Student の t 検定、Mann-Whitney U test、Wilcoxon sign rank test を行って比較した。腎機能低下速度 (1/S-Cre)を従属変数とし、交絡要因として考えられる項目を独立変数として重回帰分析を行った。有意水準は両側で 5%とした。統計解析ソフトは STATA version 13(STATA 社)を用いて行った。

4. 研究成果

全体の経過・対象患者

図 1 に登録のフローを示す。

(図 1)



2004 年から 2009 年に当院で腎生検によって IgA 腎症と診断され、遺伝子解析に同意が得られた患者 123 名のうち、検体不良 6 名、観察期間 1 年未満の 6 名を除いた 111 名が対象となった。対象患者期間中に 103 名の登録が行われ、観察期間の中央値は 31 ヶ月 (17-43)、血清クレアチニン値測定回数の中央値は 15 回 (9- 20) 回であった。

遺伝子多型ごとの臨床データ

表 1 に遺伝子多型毎の臨床データを示す。
(表 1)

項目	TT n=35	CT/ CC n=76	P 値
男性 n (%)	16(45.7)	26(34.2)	0.25
年齢 (歳)	32(28, 37)	31(26, 38)	0.70
診断までの期間 (月)	36(9, 108)	36(12, 96)	0.46
収縮期血圧 (mmHg)	110(104, 118)	118(108, 122)	0.03
蛋白尿 (蓄尿) (g/day)	0.69(0.18, 1.26)	0.60(0.30, 1.48)	0.90
血清アルブミン (g/dl)	4.1(3.7, 4.3)	4.0(3.8, 4.3)	0.76
s-Cr (mg/dl)	0.77(0.62, 0.93)	0.73(0.62, 0.92)	0.58
eGFR (ml/min)	82.8(65.4, 93.6)	81.3(65.3, 100.0)	0.64
予後予測スコア	43.1(±9.9)	44.0(±17.8)	0.89
病理組織学的分類*			0.33
Grade1 n (%)	3 (8.6)	5 (6.7)	
Grade2 n (%)	2 (5.7)	12 (16.0)	
Grade3 n (%)	21 (60)	34 (45.3)	
Grade4 n (%)	9 (25.7)	24 (32.0)	
1/s-Cr	-0.005 (-0.079, 0.018)	-0.019 (-0.636, 0.016)	0.82

*病理組織学的分類 Grade1=予後良好群、Grade2=予後比較的良好群、Grade3=予後比較的不良群、Grade4=予後不良群

TT 群は 35 名、CT/CC 群は 76 名であった。男性の割合は TT 群 45.7% (16 名)・CT/CC 群 34.2% (26 名)、年齢の中央値は TT 群 32 (IQR:28-37)歳・CT/CC 群 31(IQR:26-38)歳、診断までの期間の中央値は TT 群 36 (IQR:9-108)ヶ月・CT/CC 群 36(IQR:12-96)ヶ月、収縮期血圧の平均は TT 群 110(104-118)mmHg、CT/CC 群 118(108-122)mmHg、蛋白尿の中央値は TT 群 0.69(0.18-1.26)g/day、CT/CC 群 0.60(0.30-1.48)g/day、血清アルブミンの平均値は TT 群 4.1 (3.7-4.3)g/dl、CT/CC 群 4.0

(3.8-4.3)g/dl、血清クレアチンの平均値は TT 群 0.77(0.62-0.93) mg/dl、CT/CC 群 0.73(0.62-0.92)mg/dl、eGFR の平均値は TT 群 82.8(65.4-93.6)ml/min、CT/CC 群 81.3 (65.3-100.0) ml/min、予後予測スコアの平均は TT 群 43.1(±9.9)、CT/CC 群 44.0 (±17.8)、TT 群の病理組織学的分類は予後良好群 3 名(8.6%)、予後比較的良好群 2 名(5.7%)、予後比較的不良群 21 名(60%)、予後不良群 9 名(25.7%)、CT/CC 群の病理組織学的分類は予後良好群 5 名(6.7%)、予後比較的良好群 12 名(16.0%)、予後比較的不良群 34 名(45.3%)、予後不良群 24 名(32.0%)、1/s-Cr の中央値は TT 群で -0.005(-0.079-0.018) CT/CC 群で -0.019(-0.636-0.016)であった。有意水準 = 0.05 とした場合、収縮期血圧 (P=0.03)にのみ統計学的に有意な差を認められた。

遺伝子多型と腎機能低下速度の関連

遺伝子多型と腎機能低下速度の関連について検討するため、腎機能低下速度(1/s-cr)を従属変数とし重回帰分析を行った結果を表 2 に示す。

(表 2)

	説明変数	係数 (95% CI)	P value
Model 1	SNP=TT	-0.13 (-0.30 to 0.045)	0.15
	年齢	0.0003 (-0.0096 to 0.090)	0.95
	腎生検時 1/s-Cr	-0.13 (-0.32 to 0.63)	0.19
	病理組織所見	-0.037 (-0.101 to 0.094)	0.94
Model 2	SNP=TT	-0.14 (-0.36 to 0.08)	0.20
	予後予測スコア	0.002 (-0.005 to 0.008)	0.59

Model1 では SNP、年齢、腎生検時の腎機能、病理組織所見を独立変数として扱い、各変数における 係数は SNP=TT 群： -0.13 (-0.30 to 0.045, P=0.15)、年齢： 0.0003 (-0.0096 to 0.090, P=0.95)、腎生検時の腎機能： 0.13 (-0.32 to 0.63, P=0.19)、病理組織所見： -0.037 (-0.101 to 0.094, P=0.94)であった。Model2 では SNP、予後予測スコアを独立変数として扱い、各変数における 係数は SNP=TT 群： -0.14 (-0.36 to 0.08, P=0.20)、予後予測スコア： 0.002 (-0.005 to 0.008, P=0.59)であった。

結果の解釈および考察

登録患者のうち、腎生検時点の血清クレアチニン、蛋白尿、病理組織所見などは TT 群と CT・CC 群の間で有意な差は認められなかった。腎機能低下速度をアウトカムとした多変量解析においては、TT 群は CT,CC の群よりも腎機能低下速度が早い傾向がみられた。TLR9 の活性化は腎炎惹起性 IgA 産生増加を介した腎炎の増悪をきたし、塩基多型 TT は CT,CC 群と比較し組織学的重症度が高いことは既に報告されている。本研究結果から、TT 群は CT,CC 群と比較し腎機能低下速度が早く、予後予測因子の 1 つである可能性が示唆された。

本研究の結果は塩基多型による IgA 腎症の疾病重症度の差異について、既に報告されている塩基多型による病理学的重症度(TT 群は CT/CC 群に比較し組織学的重症度が高い)に加え、血清クレアチニン値の推移からも証明した結果となった。また、塩基多型と従来の予後予測スコアで構築したモデルにおいても塩基多型がアウトカムに影響していることが示唆されており、塩基多型は従来測定される因子とは独立した影響を持つ可能性がある。

SNP は生来不変であるため、IgA 腎症と診断された際に測定し治療方針の決定に用いることが可能である。組織学的所見だけでなくその後の臨床経過においても疾患の進展速度が速いこと、従来の予後予測因子と比しても予後に影響があることから、早期における SNP の測定が治療方針の決定に際して有用である可能性が示唆された。今後、TLR9 遺伝子 SNP の測定が IgA 腎症患者に対する治療選択の一助となり、オーダーメイド治療への発展が期待される。

研究の限界

本研究は観察期間、アウトカム設定から、長期的予後における効果について言及することは出来ない。また、治療法については扁桃摘出やステロイドパルス療法といった免疫抑制療法や抗血小板薬・RAS 系阻害薬投与など多種多様であり、類型化することが困難であった。このため本結果では各患者における治療の要素、特に SNP による扁桃摘出やステロイドパルスへの治療応答性は考慮されていない。このため、本結果は治療パターンにおける効果の修飾が生じている可能性がある。この 2 点が本研究の限界と考えている。

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 2 件)

1. Suzuki Y, Suzuki H, Makita Y, Takahata A, Takahashi K, Muto M, Sasaki Y, Kelimu A, Matsuzaki K, Yanagawa H, Okazaki K, Tomino Y.
Diagnosis and activity assessment of

immunoglobulin A nephropathy: current perspectives on noninvasive testing with aberrantly glycosylated immunoglobulin A-related biomarkers. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2014 Oct 30;7:409-14. (査読有り)

2. Nakata J, Suzuki Y, Suzuki H, Sato D, Kano T, Yanagawa H, Matsuzaki K, Horikoshi S, Novak J, Tomino Y.
Changes in nephritogenic serum galactose-deficient IgA1 in IgA nephropathy following tonsillectomy and steroid therapy. *PLoS One.* 2014 Feb 21;9(2):e89707. (査読有り)

[学会発表](計 2 件)

1. Matsuzaki K, Suzuki Y, Sakamoto N, Suzuki H, Yanagawa H, Horikoshi S, Matsuo S, Kawamura T, Tomino Y.
Proposal of clinical remission criteria for IgA nephropathy patients. *World Congress of Nephrology 2013, Hong Kong.*
2. Matsuzaki K, Suzuki Y, Suzuki H, Shimizu Y, Ohsawa I, Horikoshi S, Tomino Y
Usefulness of remission criteria as surrogate endpoint in the progression of IgA nephropathy. *World Congress of Nephrology 2015, Cape Town.*

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐藤 大介 (SATO, Daisuke)
順天堂大学医学部 助教
研究者番号 : 50621942

(2)連携研究者

松崎 慶一 (MATSUZAKI, Keiichi)
京都大学 健康科学センター 助教
研究者番号 : 20709315