

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460644

研究課題名(和文)腎疾患におけるリゾリン脂質産生酵素(ATX, PS-PLA1)の臨床的意義の解明

研究課題名(英文)Clinical significance of serum autotaxin (ATX) and phosphatidylserine-specific phospholipase A1 (PS-PLA1) levels in human kidney disease

研究代表者

清水 美保 (SHIMIZU, MIHO)

金沢大学・保健管理センター・助教

研究者番号：10547136

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生理活性リゾリン脂質のうち、リゾホスファチジン酸の産生酵素であるオートタキシン(autotaxin: ATX)の糖尿病性腎症における臨床的意義を検討した。糖尿病性腎症合併を組織診断された2型糖尿病 38例を対象とした解析にて、腎生検時の血清ATX濃度は尿蛋白量と正相関を示した。また、対象を血清ATX濃度の中央値で層別化したところ、血清ATX濃度高値群ではびまん性病変、結節性病変、細動脈硝子化が進展していたが、腎複合イベント(透析導入または推算糸球体濾過量の50%低下)発症率には差を認めなかった。以上の成績を、Intern Med誌(2016; 55: 215-221)に報告した。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the relationships between the serum autotaxin (ATX) levels and the clinical and pathological parameters, as well as the long-term renal outcome, in type 2 diabetic patients with biopsy-proven diabetic nephropathy. In this retrospective study, serum samples were collected from 38 Japanese type 2 diabetic patients with biopsy-proven diabetic nephropathy at the time of renal biopsy. A multivariate linear regression analysis revealed the urinary protein excretion to be independently associated with the serum ATX levels. In addition, patients with serum ATX levels above the median showed more advanced diffuse lesions, nodular lesions and arteriolar hyalinosis compared to those with serum ATX levels below the median. However, high serum ATX levels were not associated with renal composite events (need for dialysis or a 50% decline in the estimated glomerular filtration rate from baseline). Parts of this study were published in the Internal Medicine (2016; 55: 215-221).

研究分野：腎臓内科学

キーワード：糖尿病性腎症 オートタキシン

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病性腎症は、腎機能予後のみならず、心血管疾患の発症や生命予後の観点からも、慢性腎臓病において最も重要な疾患の一つである。本研究代表者らは、腎生検により糖尿病性腎症合併を組織診断された 2 型糖尿病 260 例を対象として、その臨床・病理学的特徴と長期予後(観察期間:平均 8.1 年,最長 30 年)を検討し、2 型糖尿病に伴う糖尿病性腎症のアウトカム(腎機能予後,心血管疾患発症,生命予後)に、顕性アルブミン尿などの臨床所見に加えて、腎病変が影響することを報告した(Shimizu M, et al. Diabetes Care 36: 3655-3662, 2013) (Shimizu M, et al. Clin Exp Nephrol 18: 305-312, 2014)。しかしながら、全ての糖尿病患者に腎生検を施行することは困難であることから、糖尿病性腎症の腎病理所見や予後予測に有用な新規バイオマーカーの探索が求められている。近年、生理活性脂質であるリゾホスファチジン酸の産生酵素であるオートタキシン (autotaxin, ATX) ならびにリゾホスファチジルセリン (lysophosphatidylserine, LPS) の産生酵素である PS 特異的ホスホリパーゼ A1 (PS-specific phospholipase A1, PS-PLA1) の定量系が開発され、病態マーカーとしての有用性が期待されている。特に、ATX は、腎線維化やインスリン抵抗性との関連が基礎研究で報告されている。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、2 型糖尿病に伴う糖尿病性腎症において、血清 ATX ならびに血清 PS-PLA1 測定の臨床的意義を検討した。

### 3. 研究の方法

対象: 1989 年~2009 年に当院で腎生検を施行され、組織学的に糖尿病性腎症合併を診断された 2 型糖尿病 38 例 (男性 27 例/女性 11 例, 平均年齢 53.6 歳) を対象とした。

方法: 腎生検時の保存血清を用いて ATX 濃度ならびに PS-PLA1 濃度を測定し、以下の臨床・腎病理所見ならびにアウトカムとの関連を検討した。

#### 臨床所見

- ・患者背景ならびに身体所見関連項目: 年齢, 性別, BMI, 血圧, 糖尿病網膜症など。
- ・腎障害関連項目: 尿アルブミン(蛋白)量, 腎機能(血清クレアチニン, eGFR), CKD 重症度分類による GFR 区分・蛋白尿区分の評価など。
- ・その他のスクリーニング項目: 血液学的検査, 糖代謝マーカー, 脂質代謝マーカーなど。

#### ② 腎病理所見

組織診断は、腎生検標本の光学顕微鏡観察, 電子顕微鏡観察, 蛍光抗体法観察により行った。腎病理所見として、以下を評価した。

- ・糸球体病変: びまん性病変, 結節性病変, 滲出性病変, メサンギウム融解
- ・尿細管・間質病変: 間質線維化・尿細管萎縮, 間質の細胞浸潤
- ・血管病変: 細動脈硝子化, 動脈硬化

#### アウトカム

腎複合イベントとして、以下を評価した。

- ・透析導入
- ・血清クレアチニンの 2 倍化
- ・推算糸球体濾過量 (estimated glomerular filtration rate, eGFR) の 50%低下

### 4. 研究成果

#### (1) 腎生検時の患者背景 (Table 1)

腎生検時の患者背景は、平均年齢 53.6 歳, 平均糖尿病罹病期間 12.6 年, 男性 71.1%, 微量アルブミン尿期 13.2%, 顕性アルブミン尿期 68.4%, 平均 eGFR 60.1mL/分/1.73m<sup>2</sup> であった。なお、本検討の対象においては、血清 ATX ならびに血清 PS-PLA1 の性差を認めなかった。

**Table 1. Clinical characteristics at the time of renal biopsy**

Age (years)	53.6 ± 9.6
Male (%)	27 (71.1)
ATX (mg/L)	0.75 ± 0.27
PS-PLA1 (µg/L)	46.80 ± 32.5
<b>Kidney-related parameters</b>	
Urinary protein excretion (g/day)	2.6 ± 2.6
A1: <0.15 g/day	7 (18.4)
A2: 0.15-0.49 g/day	5 (13.2)
A3: ≥0.5 g/day	26 (68.4)
Serum Cr (mg/dL)	1.2 ± 0.6
eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	60.1 ± 29.7
G1: ≥90 mL/min/1.73 m <sup>2</sup>	7 (18.4)
G2: 60-89 mL/min/1.73 m <sup>2</sup>	9 (23.7)
G3a: 45-59 mL/min/1.73 m <sup>2</sup>	8 (21.1)
G3b: 30-44 mL/min/1.73 m <sup>2</sup>	8 (21.1)
G4: <30 mL/min/1.73 m <sup>2</sup>	6 (15.8)
eGFR < 60 mL/min/1.73 m <sup>2</sup> (%)	22 (57.9)
<b>Diabetes parameters</b>	
Diabetes duration (years)	12.6 ± 8.5
Diabetic retinopathy (%)	34 (89.5)
HbA1c (%)	8.3 ± 2.5
<b>Other clinical factors</b>	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.6 ± 3.3
Systolic BP (mmHg)	148.2 ± 18.9
Diastolic BP (mmHg)	78.2 ± 12.5
Total cholesterol (mg/dL)	230.2 ± 71.2
Data are expressed as means ± SDs, or number (%). ATX, autotaxin; PS-PLA1, phosphatidylserine-specific phospholipase A1; BMI, body mass index; BP, blood pressure; eGFR, estimated glomerular filtration rate.	

(2) 血清 ATX と臨床所見の関連 (Table 2)

単回帰分析では, 血清 ATX と尿蛋白量との正の相関 ( $r = 0.532, p < 0.01$ ), 血清 ATX と eGFR との負の相関 ( $r = -0.378, p < 0.05$ ) を認められた. 重回帰分析では, 血清 ATX と尿蛋白量との関連を認められた.

**Table 2. Univariate and multivariate linear regression analyses between the serum ATX levels and the clinical parameters**

Parameters	Univariate		Multivariate		
	R	P	Nonstandardized Coefficient B	(95% CI)	P
Age	0.276	0.093			
Male	-0.150	0.369			
Urinary protein excretion	0.532	0.001	0.055	( 0.025 - 0.084 )	0.001
eGFR	-0.378	0.019			0.325
Hemoglobin A1c	-0.305	0.063			
BMI	-0.035	0.837			
Systolic BP	0.315	0.054			
Diastolic BP	0.069	0.681			
Total cholesterol	0.054	0.749			

Values are shown only for significant differences in multivariate linear regression analyses. BMI, body mass index; BP, blood pressure; CI, confidence interval; eGFR, estimated glomerular filtration rate.

(3) 血清 ATX と腎病理所見の関連 (Table 3)

対象患者を腎生検時の血清 ATX 濃度の中央値

(0.711mg/L) により層別化し, 腎病理所見を比較した. 血清 ATX 高値群では, びまん性病変, 結節性病変, 細動脈硝子化の進展が高度であった.

**Table 3. Associations between the serum ATX levels and the pathological parameters**

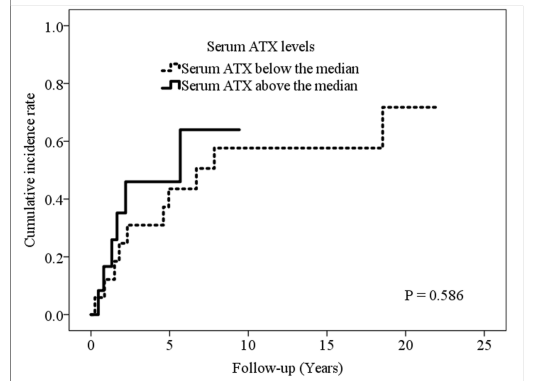
Parameters	Low serum ATX	High serum ATX	P
Diffuse lesion (Score)	2.2 ± 1.1	3.0 ± 0.8*	0.02
Nodular lesion (%)	7 (36.8)	14 (77.8)*	0.01
Exudative lesion (%)	6 (31.6)	9 (50.0)	0.25
Mesangiolytic (%)	8 (42.1)	10 (55.6)	0.41
IFTA (Score)	1.8 ± 1.1	2.4 ± 0.6	0.08
Interstitial inflammation (Score)	1.1 ± 0.6	1.2 ± 0.4	0.64
Arteriolar hyalinosis (Score)	2.1 ± 1.1	2.8 ± 0.4*	0.03
Arteriosclerosis (Score)	0.9 ± 0.6	1.2 ± 0.5	0.25

Data are expressed as means ± SDs, or number (%). \*P < 0.05 vs. low serum ATX group. IFTA, interstitial fibrosis and tubular atrophy.

(4) 血清 ATX と腎複合イベント発症の関連

腎生検時からの観察期間 (平均 7.1 年) において, 腎複合イベント発症を 16 例に認めた. Kaplan-Meier 法では, 血清 ATX 高値群と低値群の腎複合イベント累積発症率に差を認めなかった (Figure). Cox 回帰分析においても, 血清 ATX 高値群における腎複合イベント発症リスクの増加を認めなかった.

**Figure. Kaplan-Meier curves for the cumulative incidences of renal composite events stratified by serum ATX levels. Solid line, patients with serum ATX levels above median (>0.711 mg/L); dashed line, patients with serum ATX levels below median (≤0.711 mg/L). Differences between the groups were compared by a log-rank test.**



(5) 血清 PS-PLA1 と臨床所見, 腎病理所見, 腎複合イベント発症の関連

4-(2)(3)(4) と同様に, 腎生検時の血清 PS-PLA1 と臨床所見, 腎病理所見, 腎複合イベント発症との関連を検討した. しかしながら, 本検討の対象においては, 有意な関連を認めなかった.

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)

Shimizu M, Furuichi K, Toyama T, Yamahana J, Ohkawa R, Igarashi K, Aoki J, Kaneko S, Yatomi Y, Wada T. Serum autotaxin levels are associated with proteinuria and kidney lesions in Japanese type 2 diabetic patients with biopsy-proven diabetic nephropathy. Intern Med 55: 215-221, 2016.

【査読有】

〔学会発表〕(計14件)

清水美保, 古市賢吾, 和田隆志. 2型糖尿病に伴う糖尿病性腎症において, 推算 GFR 低下率と蛋白尿区分の変化が末期腎不全の発症に及ぼす影響(会議名: 第 28 回日本糖尿病性腎症研究会)(2016/12/4)

清水美保, 北島信治, 遠山直志, 原章規, 岩田恭宜, 坂井宣彦, 古市賢吾, 金子周一, 和田隆志. 糖尿病性腎症の腎予後に高齢が及ぼす影響(会議名: 第 27 回日本老年医学会北陸地方会)(2016/10/29)

清水美保, 古市賢吾, 和田隆志. シンポジウム 糖尿病と腎: 糖尿病性腎症における腎病理評価の意義(会議名: 第 59 回日本腎臓学会学術総会)(2016/6/18)

清水美保, 舟本智章, 古市賢吾, 和田隆志. 糖尿病性腎症の長期予後に血圧と腎病変が及ぼす影響(会議名: 第 7 回腎疾患と高血圧研究会)(2015/7/18)

清水美保, 遠山直志, 古市賢吾, 和田隆志. 網膜症を伴わない 2 型糖尿病に合併した腎症の腎病変と長期予後(会議名: 第 58 回日本腎臓学会学術総会)(2015/6/5)

清水美保, 遠山直志, 古市賢吾, 和田隆志. 2 型糖尿病における網膜症を伴わない腎症の臨床病理学的特徴と予後(会議名: 第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会)(2015/5/22)

清水美保, 相良明宏, 篠崎康之, 北島信治, 原章規, 山端潤也, 岩田恭宜, 坂井宣彦, 古市賢吾, 大川龍之介, 矢富裕, 和田隆志. 2 型糖尿病に伴う糖尿病性腎症における血清オートタキシン測定の意義(会議名: 第 27 回腎と脂質研究会)(2015/4/18)

清水美保, 舟本智章, 遠山直志, 古市賢吾, 和田隆志. 2 型糖尿病における網膜症を伴わない腎症の臨床病理学的特徴と予後(会議名: 第 26 回日本糖尿病性腎症研究会)(2014/12/6)

Funamoto T, Shimizu M, Furuichi K, Wada T. Impact of blood pressure and renal lesions on the long-term outcomes of type 2 diabetic patients with biopsy-proven diabetic nephropathy (会議名: American Society of Nephrology Kidney Week 2014)(2014/11/14)

清水美保, 遠山直志, 古市賢吾, 和田隆志. 血圧・加齢と腎病変が糖尿病性腎症の長期予後に及ぼす影響(会議名: 第 29 回日本糖尿病合併症学会)(2014/10/4)

清水美保, 大川龍之介, 矢富裕, 和田隆志. 糖尿病性腎症における血清リゾリン脂質産生酵素測定の意義(会議名: 第 54 回日本臨床化学会年次学術集会)(2014/9/6)

相良明宏, 清水美保, 遠山直志, 古市賢吾, 和田隆志. 正常アルブミン(蛋白)尿期に腎機能低下を認めた 2 型糖尿病例の腎病変と長期予後(会議名: 第 57 回日本腎臓学会学術総会)(2014/7/5)

清水美保, 遠山直志, 古市賢吾, 和田隆志. 血圧と腎病変が糖尿病性腎症の長期予後に及ぼす影響(会議名: 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会)(2014/5/24)

Kamikawa Y, Shimizu M, Toyama T, Furuichi K, Wada T. Impact of anemia and renal lesions on the long-term outcomes of type 2 diabetic patients with biopsy-proven diabetic nephropathy (会議

名：The 14th Asian Pacific Congress of Nephrology) (2014/5/17)

〔図書〕(計2件)

清水美保, 和田隆志. 糖尿病性腎症ならびに糖尿病に合併するネフローゼ症候群. 日腎会誌 56: 500-509, 2014.

和田隆志, 清水美保, 遠山直志, 古市賢吾. 糖尿病性腎症：研究と診療の進歩. 日腎会誌 56: 22-27, 2014.

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

清水 美保 (SHIMIZU, Miho)

金沢大学・保健管理センター・助教

研究者番号：10547136

### (2) 研究分担者

古市 賢吾 (FURUICHI, Kengo)

金沢大学・大学病院・准教授

研究者番号：50432125

和田 隆志 (WADA, Takashi)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：40334784

### (3) 連携研究者

矢富 裕 (YATOMI, Yutaka)

東京大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60200523