

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08680

研究課題名(和文) 糖尿病性腎症病態におけるヘパリンコファクターIIの臨床及び分子生物学的意義の解明

研究課題名(英文) Pathophysiological Role of Heparin Cofactor II in Diabetic Kidney Diseases

研究代表者

栗飯原 賢一 (AIHARA, Ken-ichi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・特任教授

研究者番号：70372711

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)：我々は、ヘパリンコファクター(HCII)が、プロテアーゼ・アクチベータ・レセプター(PAR)のシグナルを効果的に抑制することにより、糖尿病性腎臓病の進展阻止に寄与するとの仮説を立て、臨床的検討を行った。糖尿病患者の血漿HCII活性と尿中アルブミン(uACR)および尿中L型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)の排泄量との比較を横断研究として多変量解析を実施した結果、血漿HCII活性はuACRと負の相関を示したが、L-FABPとは相関が無かった。また縦断解析として、1年後のuACRの増加量とベースラインの血漿HCII活性も負の相関を示し、HCIIは糖尿病患者の糸球体障害の保護に寄与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病患者の腎合併症の進展によって、我が国でも多くの患者が血液透析治療を受けていることは、患者予後や医療コストの両面で、解消すべき大きな臨床課題である。本研究結果から、糖尿病性腎臓病、特に尿中アルブミン排泄の増加で表現される糸球体障害について、血漿HCIIは、病態進展抑制的に働くことが示唆された。このことから、血漿HCII活性の測定が、糖尿病患者における糸球体障害をきたすハイリスク個体の層別化に寄与する可能性がある。また血漿HCII活性を高める薬剤探索が今後進めば、糖尿病性糸球体障害の発症や進展予防に貢献する新薬開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Thrombin promotes renal injuries. Heparin cofactor II (HCII) specifically inactivates thrombin; thus, we hypothesized that low plasma HCII activity correlates with diabetic kidney diseases. Plasma HCII activity and urine biomarkers, including albumin and liver-type fatty acid-binding protein (L-FABP), were determined as the urine albumin-to-creatinine ratio (uACR) and the urine L-FABP-to-creatinine ratio (uL-FABPCR) in 310 Japanese patients with diabetes. The relationships between HCII and those DKD urine biomarkers were evaluated. In addition, the relationship between HCII and annual uACR changes was evaluated. Multivariate-regression analysis showed that plasma HCII activity contributed to the suppression of the uACR and log-transformed uACR values but not uL-FABPCR. In addition, plasma HCII inversely correlated with annual uACR and log-transformed uACR increments. Taken together, the plasma HCII activity was inversely associated with glomerular injury in patients with diabetes.

研究分野：内分泌代謝内科学

キーワード：トロンピン ヘパリン・コファクターII 糖尿病性腎臓病 尿中アルブミン L-FABP

1. 研究開始当初の背景

わが国における血液透析患者数は、増加傾向を示しており、最大の原因疾患である糖尿病性腎症の発症予防とその進展抑制は患者の予後や生活自立度への影響、医療経済的観点から最も重要な臨床課題の1つと言える。糖尿病性腎症は、その発症率に関しては均一でなく明確な個人差があるため、事前に腎症の発症感受性の高い個体を識別することが出来れば、効果的に糖尿病性腎症発症予防やその進展阻止の対策を取ることが可能になる。そのために糖尿病性腎症の病態に関連した有用なバイオマーカーの探索が必要である。

その様な中で、糖尿病性腎症患者では、尿中のトロンビン排泄量が増加していることが報告されている。また、トロンビンの受容体であるプロテアーゼ・アクチベータ・レセプター-1 および 2 (PAR-1 および PAR-2) が、腎系球体と尿細管に存在していることが近年明らかになり、RAR-1 や PAR-2 の活性化が、系球体でのメサンギウム細胞の増殖やマクロファージの浸潤を伴った腎炎の悪化に関与している事が報告されている。したがって腎臓におけるトロンビン-PARs 系を抑制的に制御する内因性の機構が存在すれば、糖尿病性腎症の発症率や重症度に関与する可能性がある。そこで、我々は腎トロンビン-PARs の内因性抑制機構の探索とそのバイオマーカーとしての有用性の検証を本研究で「問うべき課題」とした。

2. 研究の目的

トロンビンは、凝固カスケードの強力なイニシエーター作用を發揮する他に、PARs のリガンド作用が近年注目されている。そして、セリンプロテアーゼ・インヒターであるヘパリンコファクター (HC) は特異的にトロンビン阻害作用を有する事から、我々は HC がトロンビン作用を抑制することで、PARs を介した多彩な細胞増殖シグナルに対する負の制御因子として作用することを明らかにしてきた。一方、前述のように、糖尿病性腎症の病態形成においてトロンビンや PARs の活性化の関与が示唆されるものの、糖尿病性腎症の発症と進展における HC の臨床病理的意義に関する知見は、これまでに報告が皆無であった。そこで本研究では HC が糖尿病性腎臓病の抑制因子として寄与するか否かについて明らかにすることを研究目的とした。

3. 研究の方法

我々は過去の臨床研究で得た生活習慣病患者の血漿 HC 活性結果の中で、尿中アルブミン/尿中クレアチニン比(UACR)の測定結果を有する患者のデータを 143 例程度有しており、両者に負の相関を有するを見出している。したがって、血漿 HC 活性測定は、腎系球体病変の発症予測や重症度判定の有益なバイオマーカーとして使用できる可能性がある。今回、我々は多施設共同研究にて横断研究および縦断研究を遂行した(徳島大学病院倫理委員会承認番号: 2964)。

(1) 糖尿病患者のリクルートと臨床指標データの収集

徳島大学病院と関連病院である JA 徳島厚生連阿南共栄病院、JA 徳島厚生連阿南中央病院、医療法人若葉会近藤内科病院の 4 病院に通院加療中の糖尿病患者合計 310 名に書面で同意を取得し、血漿 HC 活性測定 (Stachrom®HC (chromogenic assay of HC) Stago, USA) と腎系球体障害バイオマーカーである尿中アルブミン/尿中クレアチニン比(UACR)および腎尿細管障害マーカーである尿中 L 型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)/尿中クレアチニン比(UL-FABPCR)を測定し、その他臨床指標(高血圧症や脂質異常症・喫煙歴、糖尿病罹病年数、BMI、血圧、LDL-C、TG、HDL-C、血清クレアチニン、eGFR、尿酸、HbA1c、血糖)のデータを取得した。

(2) 腎障害サロゲートマーカーを対象とした単回帰解析および多変量解析

まず、血漿 HC 活性と UACR および UL-FABPCR の各々について、単回帰解析を行い、相関の有無について検討した。その後、交絡因子と成り得る臨床指標と薬剤を組み入れた多変量解析を行い、血漿 HC 活性が独立して UACR あるいは UL-FABPCR と相関を有しているか否かを検証した。血漿 HC 活性と UACR あるいは UL-FABPCR のいずれかもしくは両者に有意な相関が得られた場合は、前向き cohort 研究を立案し、血症 HC 活性別に将来の糖尿病性腎症の発症および進展・寛解傾向の有無について解析することとした。

4. 研究成果

(1) 患者背景

本研究にエントリーされた患者は合計 310 名(男性 176 名、女性 134 名)。平均年齢は 66.0 ± 11.3 歳、平均 HbA1c $6.9 \pm 1.0\%$ 、平均糖尿病罹病歴は、 10.5 ± 8.1 年であった。また血漿 HCII 活性は、平均 $93.8 \pm 17.7\%$ であり、男女差は認めなかった。半数以上に高血圧症や脂質異常症の併存症を伴っていた。なお、対象患者のうち、90%以上は 2 型糖尿病患者でありインスリン投与患者は全体の 20.6%であった。

(2) 血漿 HC 活性と年齢および血漿フィブリノゲンの相関

血漿 HCII 活性は、我々のこれまでの報告と同様、年齢と共に低下傾向を示した。また血漿フィブリノゲンとは有意な正の相関を示した。

(3) 尿中アルブミン(UACR)と尿中 L-FABP(UL-FABPCR)の相関

UACR と UL-FABPCR については、有意な正相関が見られた。

(4) 血漿 HC 活性と尿中バイオマーカーの相関

血漿 HC 活性と UACR および UL-FABPCR の相関について、単変量解析を行なった結果、HC と UACR については、負の相関を示したが、HC と UL-FABPCR については、明らかな相関を認めなかった(図1)。そこで、血漿 HC 活性が独立した尿中アルブミン排泄量の規定因子であることを証明するため、その他の臨床的交絡因子を含めた多変量解析を行なったところ、血漿 HC 活性と UACR の負の相関は維持された。この関係は、投与薬剤での追加補正解析でも同様であった。次に、1年後の UACR の増減とベースラインの血漿 HC 活性の相関について 201 例で縦断解析したところ、血漿 HC 活性は年間 UACR 変化と有意に負の相関を示し、この関係は交絡因子の補正を行なっても維持された。

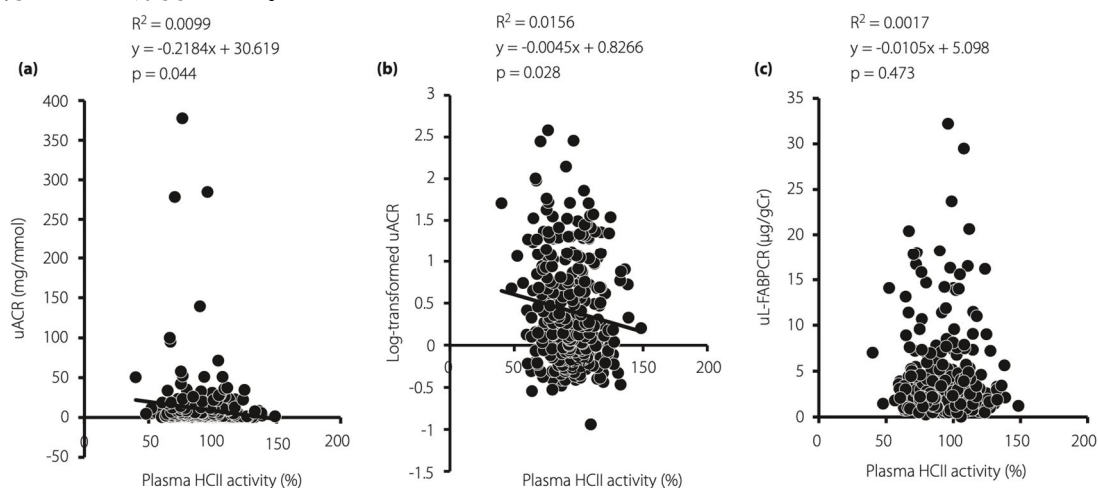


図1. 血漿 HCII 活性とアルブミン尿および尿 L-FABP との相関

(5) 結論

以上の研究結果から、血漿 HC 活性は糖尿病患者における腎系球体障害特異的に病態進展抑制的なバイオマーカーとして利用可能であることが示唆された。本活性の低値糖尿病患者では、早期の包括的な腎保護療法の必要性があり、また HC は今後糖尿病性腎臓病の治療標的分子となる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tomoyo Hara, Ryoko Uemoto, Akiko Sekine, Yukari Mitsui, Shiho Masuda, Kiyoe Kurahashi, Sumiko Yoshida, Toshiki Otsuda, Tomoyuki Yuasa, Akio Kuroda, Yasumasa Ikeda, Itsuro Endo, Soichi Honda, Katsuhiko Yoshimoto, Akira Kondo, Toshiaki Tamaki, Toshio Matsumoto, Munehide Matsuhisa, Masahiro Abe, Ken-Ichi Aihara	4. 巻 12
2. 論文標題 Plasma heparin cofactor II activity is inversely associated with albuminuria and its annual deterioration in patients with diabetes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 2172-2182
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jdi.13602	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 原倫世、上元良子、関根明子、乙田敏城、湯浅智之、吉田守美子、粟飯原賢一
2. 発表標題 糖尿病性腎症における血漿ヘパリン コファクターII活性の臨床的意義
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

〔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
研究分担者	八木 秀介 (YAGI Shusuke) (00507650)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・特任教授 (16101)	
研究分担者	吉田 守美子 (YOSHIDA Sumiko) (40510904)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・准教授 (16101)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	池田 康将 (IKEDA Yasumasa) (60432754)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・教授 (16101)	

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