

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 8 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591569

研究課題名(和文)尿中アンジオテンシノーゲン測定による小児慢性腎炎の新たなバイオマーカーの開発

研究課題名(英文)Urinary angiotensinogen as a novel biomarker in pediatric patients with chronic glomerulonephritis

研究代表者

漆原 真樹 (URUSHIHARA, Maki)

徳島大学・大学病院・講師

研究者番号：50403689

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：腎生検によって診断された小児IgA腎症について治療前後の尿中アンジオテンシノーゲンを測定し、その腎病理所見との関係を検討してみたところ、治療後に腎障害の改善に相関して有意に低下していた。本研究によって尿中アンジオテンシノーゲンが腎障害の程度を示す優れたバイオマーカーであり、治療効果判定の指標となり得ると考えられた。今後、さらに研究を進めていけば尿中アンジオテンシノーゲンを測定することにより腎不全へと進展する小児難治性腎疾患患者を適切に治療し、新規透析患者を減少させることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：We tested hypothesis that measurements of urinary angiotensinogen level provide a specific diagnostic test for identifying patients with activated infrarenal renin-angiotensin system (RAS) in pediatric IgA nephropathy. As the results, urinary angiotensinogen levels were significantly decreased after RAS blockade treatment, accompanied by the magnitude of renal injury. Additionally, urinary angiotensinogen levels were positively correlated with the level of renal injury. These data indicated that the urinary angiotensinogen is a useful biomarker of infrarenal RAS activation, which is associated with renal injury during RAS blockade treatment in pediatric IgAN patients.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：腎炎 アンジオテンシノーゲン バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

学校検尿の普及により小児腎臓病は早期の発見および早期の治療が可能となった。その一方で、治療に抵抗性を示し腎不全へと進展する患者がいまだ存在している。そのため、今後は腎病態を「いかに正確に把握するか」「いかに適切な治療法を選択するか」「いかに予後を正確に判定するか」が重要になってくると考えられる。これに対して本研究では、腎臓病の進展において重要な役割を果たしているレニン・アンジオテンシン系 (RAS) の活動性を正確に評価することによって適切な対処を可能とし、これまで難渋していた腎疾患への新たな治療戦略の開発を目的とするものである。

RAS 全身の血圧および水分調節の最も重要な制御機構の一つである。古典的な RAS の概念は、主に肝臓で合成されて基質であるアンジオテンシノーゲン (AGT) が律速酵素であるレニンによってアンジオテンシン I (Ang I) に分解され、さらにアンジオテンシン変換酵素により生理活性を持つアンジオテンシン II (Ang II) に変換されて血圧や体液調節に関与する循環 RAS であった。しかしながら、近年の研究はこのような全身、循環 RAS から局所、組織 RAS へと向かっており、とりわけ腎臓は臓器内に存在する RAS の構成因子が腎臓内の Ang II の濃度を調節している。

組織特異的な局所 RAS は降圧作用には関係のない臓器効果の観点から近年、着目されている。腎臓のほかにも、脳、心臓、副腎、血管における組織特異的な RAS の重要性が新たに報告されつつある。そのなかでも腎臓はネフロン、尿細管間質に Ang I を生成するのに必要な要素がすべて存在するという特徴を持っている。AGT は遺伝子レベルでも蛋白レベルでも近位尿細管および糸球体で発現している。また、レニンあるいはレニン様活動性を持つタンパク質が近位尿細管細胞で確認されており、少さらに近位尿細管の刷子縁には豊富な量のアンジオテンシン変換酵素が発現している。Ang II に対する受容体には Ang II 1 型 (AT1) 受容体と Ang II 2 型 (AT2) 受容体の二つのサブタイプが存在し、腎臓内に広く分布している。これらの知見から、腎臓内では Ang II を生成するすべての要素が発現していることが理解できる。

そして AGT が腎臓内でも安定して発現しておりアンジオテンシン II 産生と極めて高く相関していることが報告され、腎内 RAS 亢進の優れた指標となることが期待されている。

申請者は小児腎臓病を専門としていることから特に糸球体腎炎における RAS の関与を、基礎および臨床研究の両側面から続けてきた。近年では AGT に着目して、慢性腎炎患者における尿中 AGT を測定し正常人に比して有為に上昇していることを世界ではじめて報告した。興味深いことにその上昇は RAS 阻害剤の投与を行っている患者では抑制されていた。また、ヒト腎生検組織においても免疫組織学的検討で AGT の発現が増強していることを明らかにしている。

そこで、これまでの実績や経験、留学の際に得たノウハウを活かして本研究では小児慢性糸球体腎炎患者の治療前後において尿中 AGT を測定し、RAS 阻害剤やステロイドなどによる治療によってどのように変化するのかを検討する。また、これまでの基礎的研究から得られた知見をもとにあらゆるパラメーターとの関連性を考察し、腎内の RAS 亢進がどのように腎炎進行に関与しているのかを探求する。

2. 研究の目的

本研究では尿中アンジオテンシノーゲン (AGT) に着目し、小児慢性糸球体腎炎患者の治療前後において尿中 AGT を測定し、臨床データおよび腎生検組織での RAS 構成因子の発現強度と比較することにより尿中 AGT が腎内 RAS 活動性の指標となり得るかを検討する。さらに、腎障害進展因子である TGF- β との関連を検討することによって、腎臓病の病勢と予後を予測し適切な治療法を選択可能とする新たなバイオマーカーとしての意味付けを目指すものである。

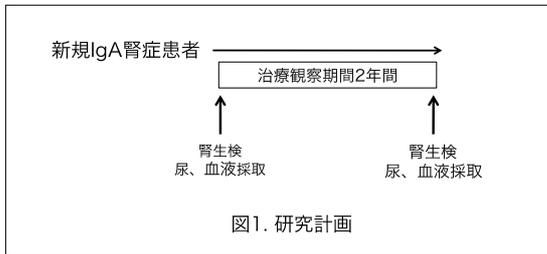
3. 研究の方法

(1) 被検者の登録と検体の採取およびデータの収集

腎生検を施行し病理組織所見により新規に確定診断された小児慢性糸球体腎炎の代表

的な疾患である IgA 腎症患者にインフォームドコンセントを行い、尿と血液を採取する。身長、体重、血圧、電解質、腎機能も測定する。ガイドライン（小児 IgA 腎症治療ガイドライン 1.0 版（日本小児腎臓病学会）など）に従い治療を行う。治療効果判定およびその後の治療、生活管理方針決定のため 2 年後に再生検を施行する。その際にも尿と血液を採取する。

治療開始後 2 年を経過した症例に関しては再生検を実施する。初発時と同様に尿中および血中 AGT を ELISA 法により測定し、血漿レニン値も測定する。腎生検組織における各蛋白の発現も初発時と同様に行う。臨床データと合わせて尿中 AGT との関連を初発時と同様に検討する（図 1）。



(2) 尿中 AGT, 腎内 RAS の評価

尿中および血中の AGT は酵素免疫吸着法（Enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA）による測定を行う。血漿中のレニン活性も測定する（Radioimmunoassay; RIA）。腎生検組織における AGT, アンジオテンシン II の発現をそれぞれの特異抗体を用いて免疫染色を行い、組織における RAS 構成因子の発現強度を評価する。

(3) 糸球体病変と腎障害因子との関連

HE, PAS, PASM, AZAN 染色にて糸球体メサンギウム細胞増多、基質増加、硬化、癒着、尿細管萎縮、間質線維化をスコア化し、尿中 AGT との関連を調べた。また、腎障害進展因子である TGF- β の組織での発現を特異抗体を用いて評価し、尿中の値も ELISA 法により測定した。

4. 研究成果

対象となったのは腎生検により診断された小児 IgA 腎症 24 名。全例で尿中蛋白/クレアチニン比、糸球体メサンギウム細胞増多スコアとも治療前に比較して治療後に有意に改善がみられ尿中アンジオテンシノーゲン/クレアチニン比も治療により有意に低下していた。一方、血中アンジオテンシノーゲン値は治療前後で変化がなかった。なお、TGF- β /クレアチニン比も治療により有意に低下していた（図 2）。

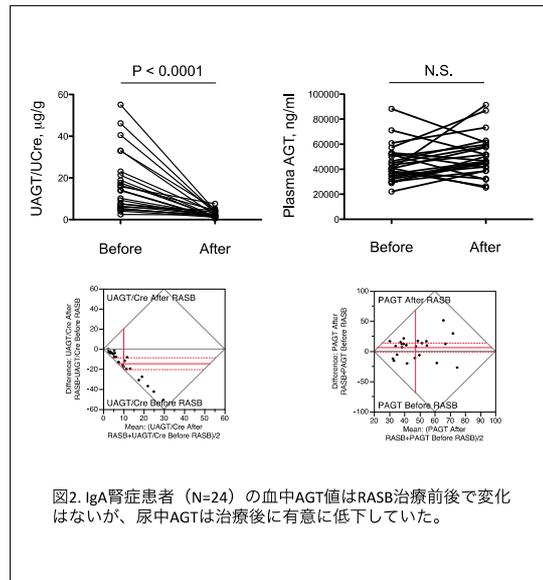


図2. IgA腎症患者（N=24）の血中AGT値はRAS治療前後で変化はないが、尿中AGTは治療後に有意に低下していた。

尿中アンジオテンシノーゲン/クレアチニン比は尿中蛋白/クレアチニン比、拡張期血圧、腎病理組織における糸球体メサンギウム細胞増多スコア、アンジオテンシノーゲン、アンジオテンシン II、TGF- β の発現強度ともそれぞれに有意な正の相関関係があった。

これらの結果から、小児 IgA 腎症において尿中アンジオテンシノーゲンは腎内 RAS 活性化のみならず腎炎の活動性を反映しており、RAS 阻害剤による腎内 RAS 活性化抑制と腎炎の治療効果の指標にもなり得ると考えられる。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

発表者名：漆原真樹、発表標題「小児 IgA 腎症における尿中アンジオテンシノーゲンと腎内 RAS 活性化および糸球体病変の関係」、学会名：第 49 回日本小児腎臓病学会学術総会、発表年月日：2014 年 6 月 5 日、発表場所：秋田ビューホテル(秋田県)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

漆原 真樹 (URUSHIHARA, Maki)

徳島大学・病院・講師

研究者番号：50403689

(2)研究分担者

香美 祥二 (KAGAMI, Shoji)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：00224337

(3)連携研究者

なし