

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：72696

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09741

研究課題名（和文）尿中microRNAを用いた腎移植後のBKウイルス腎症の診断

研究課題名（英文）Diagnosis of BK virus nephropathy after renal transplant recipients using urinary microRNA

研究代表者

力石 辰也（Chikaraishi, Tatsuya）

（財）冲中記念成人病研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：80261303

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：腎移植後のBKウイルス（BKV）腎症は、移植腎機能喪失の重要な原因ですが、その診断には移植腎生検が必要です。本研究では、腎移植患者の尿中に出現するBKV由来のmicroRNAという物質を測定することによりBKV腎症の診断が可能かどうかを調べました。その結果、腎移植後BKV腎症の患者さんでは、尿中にBKV由来の2種のmicroRNAが著しく上昇しており、診断に使える可能性が示されました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎移植のBKウイルス（BKV）腎症は、移植腎機能喪失の重要な原因である。しかし、現時点ではその診断は移植腎生検に頼らざるを得ない。腎移植患者の尿中に出現するBKV由来のmicroRNAを測定することによりBKV腎症を診断することが可能になれば、その簡便さ・繰り返し行うことの容易さから、腎移植の臨床において非常に有用と考えられる。本研究では、日本人腎移植患者において、尿中の尿中miRNA-B1-3pおよびmiRNA-B1-5pの発現はBKV腎症症例で著しく上昇していることを明らかにし、これらの測定がBKV腎症の診断を早期かつ非侵襲的に行うことができる可能性を示唆することができた。

研究成果の概要（英文）：In three patients who developed BK virus (BKV) nephropathy after kidney transplantation, urinary miRNA-B1-3p and miRNA-B1-5p were measured by realtime PCR, and the expression of these miRNAs was compared with that at the time of kidney transplantation by Ct method.

The fold change of urinary miRNA-B1-3p was markedly increased by 335.5, 6746.9 and 9152.8 fold, respectively. The fold changes of urinary miRNA-B1-5p were markedly elevated 67.2, 1807.8, and 2778.3. It was inferred that measurement of urinary miRNA-B1-3p and miRNA-B1-5p is effective for early diagnosis of BKV nephropathy.

研究分野：腎移植

キーワード：腎移植 BKウイルス microRNA 尿

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

BK ウイルス関連腎炎(BKVN)は腎移植患者においてグラフトロスの重要な原因であり、早期から非侵襲的に診断できることが望ましいが、現状では移植腎生検に頼らざるを得ない。そこで、当初の研究計画では、腎移植症例から経時的に尿・血液・移植腎組織を採取し、BK ウイルス腎症を発症した症例とそうではない症例について、検体の microRNA を網羅的に解析することによって、BK ウイルス腎症症例に特異的な microRNA を見出すことを目的としていた。しかし、新型コロナウイルスによる腎移植症例の減少と、免疫抑制法の進歩により、BK ウイルス腎症を発症する症例は減少してしまった。そのため、以下のごとく研究の方法を変更した。

### 2. 研究の目的

腎移植患者の尿中 microRNA を解析することにより、腎移植後の BKV 腎症の早期および非侵襲的診断につながる知見を得ることを目的とした。

### 2. 研究の方法

2020年11月1日から2022年12月31日までの期間に、虎の門病院および虎の門病院分院腎センター外科で腎移植を受け、検体採取に承諾が得られた44例について検討を行った。そのうち、腎移植後にデコイ細胞陽性となった症例は14例、移植腎生検で Polyoma virus 陽性を確認できた症例は4例あった。

海外の先行研究では、腎移植後の尿中 microRNA bkv-miR-B1-3p および、microRNA bkv-B1-5p が BKV 腎症の診断に有用である可能性があるとして報告されていたので、その結果を踏まえ、本研究においても、BKV 腎症を発症し、移植腎生検で確定診断を得た4例・尿中にデコイ細胞を検出したものの BKV 腎症には至らなかった1例・臨床的に何も異常を示さなかった2例を解析の対象とし、腎移植直後・BKV 診断またはデコイ細胞出現時・またはプロトコール生検時の尿中の miRNA-B1-3p および miRNA-B1-5p を測定した。内在性コントロールとしては、has-miR-16 を用いてこれらの microRNA を TaqMan™ MicroRNA Assays による realtime PCR 法で測定した。これらの miRNA の発現を標準化 Ct 値および Ct 法による fold change で比較した。

### 3. 研究成果

腎移植時の尿中 miRNA の標準化した Ct 値についてはコントロールの has-miR-16 と比較して bkv-miR-B1-3p と bkv-miR-B1-5p はどちらも Ct 値が高く、発現量が少なかった。BKV 腎症診断時または protocol 生検時の尿中 miRNA の標準化した Ct 値においては bkv-miR-B1-3p 及び bkv-miR-B1-5p の標準化 Ct 値はコントロール群より、デコイでやや低く、BK 群でさらに低かった。すなわち、bkv-miR-B1-3p 及び bkv-miR-B1-5p の発現は、もともとデコイでやや高く、BK 群でさらに高かった。さらに腎移植時と BKV 発症時の比較で

は、bkv-miR-B1-3p と bkv-miR-B1-5p の両方の発現量が、BKV を発症し患者群において、他の 2 群に比べて有意に高かった。

Ct 法による解析では、bkv-miR-B1-3p の fold change は異常がなかった例では 89.9 および 0.01、デコイ細胞のみ陽性例では 53.4 であったが、BKV 腎症の 3 例では 335.5、6746.9、9152.8 と著しく上昇していた。bkv-miR-B1-5p の fold change は異常がなかった例では 45.9 および 0.02、デコイ細胞のみ陽性例では 16.0 であったが、BKV 腎症の 3 例では 67.2、1807.8、2778.3 と著しく高値となっていた。内在性コントロールである has-miR-16 の fold change には差がみられなかった。以上から、尿中の miRNA-B1-3p および miRNA-B1-5p の発現を測定することにより、BK ウィルス腎症を早期に診断しうる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	丸井 祐二  (Marui Yuhji)  (50791802)	聖マリアンナ医科大学・医学部・教授   (32713)	
研究分担者	石井 保夫  (Ishii Yasuo)  (80318039)	(財) 沖中記念成人病研究所・その他部局等・研究員   (72696)	
研究分担者	中村 有紀  (Yuhki Nakamura)  (50349487)	(財) 沖中記念成人病研究所・その他部局等・研究員   (72696)	

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