

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08969

研究課題名（和文）AGEsに着目した移植腎の非免疫学的予後規定因子に関する多面的臨床研究

研究課題名（英文）A clinical study of non-immunological factors affecting allograft survival focusing on AGEs.

研究代表者

中村 道郎（Nakamura, Michio）

東海大学・医学部・教授

研究者番号：00246547

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：移植腎廃絶原因の非免疫学的機序と深い関連のある終末糖化産物（AGEs）に着目し、腎移植患者における皮膚組織中及び血中AGEs（CML, MG-H1）レベルを、AGEsセンサー及びLC-MS/MSにて測定した。横断研究において、腎移植患者の組織中・血中AGEsが共に健常者よりも有意に高値を示し、糖尿病や脂質異常症を合併している患者で顕著であった。重回帰分析の結果、皮膚組織中AGEsは、透析歴と血中AGEsが有意であった。縦断研究では、高値を示した血中AGEsは移植腎機能の改善で、速やかに低下する一方、組織中AGEsは背景因子の影響を受けて推移するという乖離が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臓器不足が課題の移植医療において、移植腎廃絶原因を明らかにし、移植腎の長期生着達成は重要事項である。本研究では非免疫学的機序と関連深い終末糖化産物（AGEs）に着目した。対象を腎移植患者とする研究は稀有であり、さらに血中AGEsレベル測定が難しい中、比較的測定容易な皮膚組織中AGEsを本邦で開発されたAGEsセンサーで測定し、血中AGEsとの関連性や腎移植後の推移とともに解析した研究は初めてである。今後、皮膚組織AGEs測定を中長期に及んで継続解析することで、移植腎の長期予後改善へ向けた患者管理の一方法を提供できる可能性があり、本研究の研究成果は学術的とともに社会的意義があると考えている。

研究成果の概要（英文）：With a focus on advanced glycation products (AGEs), which are closely related to non-immunological mechanisms of allograft failure, we analyzed the relationship between measurement of tissue and blood levels of AGEs and background factors in kidney transplant recipients. Skin tissue AGEs were measured by a AGEs sensor developed in Japan, and two types of blood AGEs, CML and MG-H1, were measured by LC-MS/MS. In a cross-sectional study, both tissue and blood AGEs in kidney recipients were found to be significantly higher than in healthy subjects, and this was more pronounced in patients with concomitant diabetes and dyslipidemia. Multiple regression analysis showed that patient dialysis history and blood AGEs levels affected significantly skin AGEs levels. In the longitudinal study, a divergence was observed, with high blood AGEs levels quickly decreasing with improvement in allograft function after transplantation, while tissue AGEs levels changed influenced by background factors.

研究分野：臓器移植 腎移植

キーワード：腎移植 終末糖化産物 AGEs AGEsセンサー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病 (CKD) の患者数が増加の一途を辿るなか、腎移植は、生活の質のみならず生命予後改善、さらには医療費削減の面でも最も優れた腎代替療法である。しかし、本邦における移植臓器の慢性的な不足は深刻であり、移植臓器の長期的生着が求められている。

移植腎廃絶の原因は、慢性拒絶反応を主体とする免疫学的機序と、高血圧・糖尿病に代表される成人病に起因する動脈硬化や腎糸球体病変が原因となる非免疫学的機序がある。非免疫学的機序に対しては、高齢、糖尿病・心血管病合併患者が増加傾向だが充分に対策が進んでいるとはいえない。移植時糖尿病合併は約 22%、移植後糖尿病発症の頻度は 14-24%で増加傾向である。近年、移植腎が機能した患者が死亡する、いわゆる「生着中死亡」は増加傾向で、心血管病 (冠動脈、脳血管) が死因の上位となっている。

腎移植患者の血管病変に糖尿病や CKD 患者に蓄積された AGEs が関与していることが報告された (Tanikawa T, et al. J Vasc Res 2009;46, Liu Y, et al. Am J Transl Res 2016;8)。すなわち AGEs を産生する一連の糖化反応は、粥状動脈硬化と石灰化、動脈中膜石灰化を促進し、心血管病発症や生命予後に関連している可能性が高い。

本研究ではまず、腎移植患者における AGEs を血中だけでなく組織中にて測定し、移植腎機能低下との関連性を明らかにしたいと考えた。同時に、縦断研究遂行に伴って AGEs レベルを経時的に観察し、腎移植治療の効果や限界を明らかにしたいと考えた。

本研究で使用予定の AGEs センサーは、アジア人に多いメラニン色素が影響しやすかった従来の海外機器から、改良開発された新世代 AGEs センサーである (Yamanaka M, Nagai R, et al. J Clin Biochem Nutr 2016;58(2))。

### 2. 研究の目的

移植腎機能の長期予後を改善・維持するために次にことを明らかにすることを目的とした。

- 腎移植後の AGEs (血中、組織中) レベルの評価法の確立と推移
- 腎移植患者における AGEs の心血管系合併症・移植腎機能との多面的関連性の解明

### 3. 研究の方法

#### (1) 対象:

(横断研究): 腎移植後患者 (n=94)、(対象群): 腎移植生体ドナー候補 (n=17)

(縦断研究): 新規腎移植患者 (n=17、2023 年度まで)

#### (2) 方法・データ収集

腎移植患者における組織中及び血中 AGEs レベルの測定と背景因子との関連性について解析を行った。

(背景因子): 年齢、心疾患既往、喫煙・飲酒歴、内服歴などのデータ収集

(一般血液検査)(横断・縦断): 腎機能 (eGFR)、炎症性マーカー、糖質・脂質関連因子

(AGEs 測定):

血中 AGEs (CML: N -[Carboxymethyl]lysine、MG-H1: N -(5-hydro-5-methyl-4-imidazolone-2-yl)-ornithine) 測定方法: LC-MS/MS.

組織中 (皮膚) AGEs \*測定: AGEs センサー (RQ-AG01J, Sharp Life Science Co.)

\*組織中 AGEs (SAF-AGE: skin autofluorescence-AGE)

#### 4. 研究成果

##### (1) 横断研究:

組織中・血中の両方を測定できたのは、腎移植患者 93 名 (平均 49 歳) と対照群の生体腎ドナー候補 22 名 (平均 58.5 歳) であった。(表 1)

・腎移植患者の血中 AGEs 及び SAF-AGE は、ともに健常者よりも有意に高値を示した。

<表 1>

	対照群	腎移植患者群	P 値
症例数	22	93	
男:女	5:21	60:33	
年齢	58.5 ± 10.2	49.2 ± 13.2	0.001
eGFR	75.2 ± 18.1	44.1 ± 11.8	<0.001
A1c	5.6 ± 0.4	6.0 ± 0.8	0.008
SAF-AGE(a.u.)	0.490 ± 0.07	0.570 ± 0.10	0.0001
CML(pmol/μL)	0.018(0.012-0.628)	0.043(0.032-0.057)	<0.0001
MG-H1(pmol/mL)	0.114(0.102-0.147)	0.147(0.111-0.194)	0.0343

・MG-H1 は、高齢・男性で高値を示し、糖尿病や脂質異常症を合併している患者で顕著であった。

・SAF-AGEs は男性で高値を示したが、移植腎機能や年齢には影響を受けず透析歴のみ有意な相関関係が認められた (r=0.560, p=0.0025)。

・SAF-AGEs を従属変数とした重回帰分析では、透析歴 (β = -0.294, p=0.004) と血中 CML 値 (β = 0.260, p=0.011) が有意であった。(表 2)

<表 2>

	非標準化係数 B 値	標準化係数 β 値	P 値	B の 95% 信頼区間	
(定数)	0.508		0.000	0.466	0.550
透析歴	0.006	0.294	0.004	0.002	0.009
血中 CML	0.962	0.260	0.011	0.228	1.695

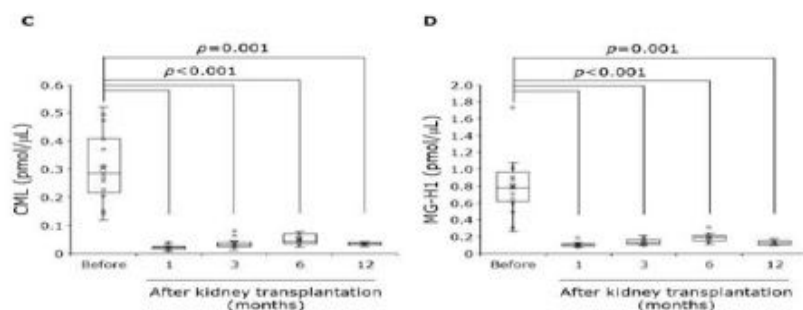
##### (2) 縦断研究:

血中及び組織中 AGEs の腎移植後の推移について調べた。

腎移植後 12 か月間フォローアップ可能であった患者は、現時点で 17 例であった。

・AGEs (CML, MG-H1) の血中レベルは腎移植後の腎機能の回復後速やかに低下した。(図 1)

<図 1>



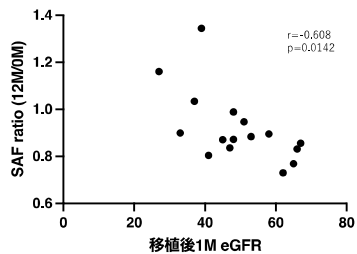
・SAF-AGEs は数か月間一定の傾向を示さず推移した。腎移植後 12 か月の時点で、術前の SAF-

AGEs レベルより低下が認められた症例は、17 例中 14 例であった。

・SAF-AGEs レベルが低下しなかった 3 例は、すべて糖尿病性腎症を原疾患にもつ患者であった。そして A1c 値が有意に高値であった。

・ SAF-AGEs レベルの術前と 12 ヶ月後の比 ( SAF-AGEs 変化率 : 12mSAF-AGEs/preSAF-AGEs ) を計算し、様々な因子との相関関係を解析したところ、腎移植後 1 か月時点の eGFR に有意な相関関係を認めた。( 図 2 )

< 図 2 >



### ( 3 ) ディスカッション

慢性腎臓病患者の血中 AGEs レベルは、eGFR の低下とともに上昇することが明らかとなり、腎機能低下に伴う蓄積が考えられる。また、腎移植患者の組織中 ( 皮膚 ) AGEs は、患者透析歴と血中 AGEs レベルに影響を受ける。透析歴に関しては高い血中 AGEs レベルの暴露期間が影響していると考えられるが、腎移植後の様々な管理指導の中、血中 AGEs レベルを低く保持する重要性も示唆された。

腎移植後における AGEs レベルの推移は、血中と組織 ( 皮膚 ) 中で乖離が認められた。血中 AGEs レベルは、腎移植後の腎機能の改善で速やかに低下するのに対し、組織 ( 皮膚 ) 中 AGEs レベルは、12 ヶ月後には低下する可能性が高いが、その間の様々な患者背景因子によって影響を受ける。影響要因の中に、A1c 値及び移植腎機能 ( 術後 1 ヶ月 ) の影響が認められた。

本研究の目的のひとつである、移植腎の長期予後を目指すために、腎移植患者の組織中 AGEs レベルを低く維持することが重要である。そのために下記の 2 つの要素が必要であることが示唆された。まずは、腎移植時点 ( 前 ) での低い組織中 AGEs レベルの保持であり、先行的腎移植など透析期間は短い方が有利である。次に、腎移植後良好な移植腎機能と血糖管理の継続維持であり、移植後の生活習慣を含めた管理指導も重要であると考えられる。

本研究の目的の一つでもある、AGEs の移植腎予後への影響については、今後、腎移植後 1 年間の追跡する症例が蓄積されれば、さらに詳細な解析結果を導き出すことができると考えている。

### ( 4 ) 現時点での結論

腎移植患者における組織中 AGEs ( SAF-AGEs ) レベルは、患者透析歴に関連し、その血中 AGEs レベルの影響を受ける。一方、腎移植後の血中 AGEs レベルは、移植腎機能の改善に伴い速やかに低下することが明らかになったが、組織に蓄積した SAF-AGEs レベルとは乖離が認められた。SAF-AGEs は低下する可能性が高いものの、ある程度期間を要し、さらに移植腎機能や血糖値など患者背景因子との関連性が示唆された。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Katsuta Nana, Nagai Mime, Saruwatari Kaishi, Nakamura Michio, Nagai Ryoji	4. 巻 72
2. 論文標題 Mitochondrial stress and glycooxidation increase with decreased kidney function	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 147 ~ 156
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3164/jcfn.22-101	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 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村道郎 上原咲恵子 滝口進也 富田祐介、勝田奈那、永井竜児
2. 発表標題 腎移植患者における血中・組織中の終末糖化産物レベルの検討
3. 学会等名 第56回日本臨床腎移植学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中村道郎 上原咲恵子 滝口進也 富田祐介 永井竜児
2. 発表標題 腎移植患者における終末糖化産物の解析と生活習慣病管理の検討
3. 学会等名 第55回日本臨床腎移植学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 勝田奈那、猿渡海史、永井美芽、中村道郎、永井竜児
2. 発表標題 ミトコンドリア機能障害に伴い生成される2SCと慢性腎臓病との関連
3. 学会等名 第32回腎とフリーラジカル研究会
4. 発表年 2021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	深川 雅史 (FUKAGAWA Masafumi) (00211516)	東海大学・医学部・教授  (32644)	
研究分担者	永井 竜児 (NAGAI Ryoji) (20315295)	東海大学・農学部・教授  (32644)	
研究分担者	山中 幹宏 (YAMANAKA Mikihiro) (70767946)	東海大学・農学部・特任准教授  (32644)	
研究分担者	豊田 雅夫 (TOYODA Masao) (00349383)	東海大学・医学部・准教授  (32644)	

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
---------	---------