

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 25日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591061

研究課題名（和文） 尿毒症性心筋症の自己免疫的機序の検討

研究課題名（英文） Autoimmunological Mechanism in Uremic Cardiomyopathy

研究代表者

緒方 浩顕 (OGATA HIROAKI)

昭和大学・医学部・講師

研究者番号：30296959

研究成果の概要（和文）：

尿毒症性心筋症(UC)は特発性心筋症(DCM)と類似の病理所見を呈することが報告されている。UCの原因は multifactorial と考えられているが、その中に DCM と同様、自己免疫的機序が関連している可能性がある。本研究では、各種心筋抗体と UC の関連について、CKD 患者及び腎不全モデル動物を用いて検討した。その結果、抗心筋抗体の中でも抗 $\beta 1$ adrenergic receptor 抗体(β ARAb)が高頻度に検出され、腎機能の悪化とともにその検出頻度は上昇した。また、透析患者では、 β ARAb 陽性患者では低左心機能症例が高頻度に認められた。 β ARAb 陽性 UC 患者に対して、二重膜濾過血漿交換による抗体除去療法を施行したところ、心機能の改善がみられ、これらのことから UC の病態には抗心筋抗体を介した自己免疫機序の関与が推察された。

研究成果の概要（英文）：

It has been reported to be some similarities in pathological findings on heart between uremic cardiomyopathy (UC) and idiopathic dilated cardiomyopathy (DCM). The fact suggests that autoimmunological mechanism involve in the pathomechanism of UC, which is likely to be multifactorial. We examined the role of autoimmunological mechanism in the pathogenesis of US in experimental and clinical studies. Anti-myocardium antibodies were more prevalent in patients with CKD, compared with subjects with normal kidney function. Among there antibodies, anti-adrenergic receptor antibody (β 1ARAb) was frequently found in patients with advanced CKD. In addition, β 1ARAb was significantly associated with lower left ventricular function in patients on hemodialysis. We found that removal of β 1ARAb by DFPP (double filtration plasmapheresis) was very effective in dialysis patients with high titer of β ARAb, who suffered from severe heart failure due to UC. Taken together, the results suggest that autoimmunological mechanism plays a crucial role in the pathogenesis of UC.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：人工透析学

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病(CKD)では心血管障害(CVD)の発症・死亡リスクが高く、中でも透析患者では死因の第一位がCVDの末期像である心不全である(Am J Kidney Dis 30:S107,1997)。また、維持透析患者では心機能低下により家庭生活や社会復帰が困難な症例も多く、透析治療自体が困難となるケースも相当数みられる。CKD患者では虚血性心疾患、弁膜症や高血圧性心疾患の合併率も高く、これらにより二次的に心機能が低下し、心不全を呈する症例が少なくない。しかしながら、明らかな冠状動脈病変、弁膜症や高血圧性疾患が欠如するにもかかわらず、進行性に左心室機能が低下するにUCも相当数認められる(Semin Dial 24:319,2008)。左心室腔の拡大、拡張能低下や心筋リモデリング異常を主徴とするUCの発症・進展機序は不明な点が多いが、基疾患や慢性体液過剰状態、尿毒症環境に基づくmultifactorialな因子から生じると想定されており、貧血、Renin-angiotensin-aldosterone系異常、糖・脂質代謝異常、サイトカインの異常、慢性炎症状態や酸化ストレスに加え、最近注目されているCKDに伴う骨・ミネラル代謝異常(CKD-MBD)や血管内皮前駆細胞の異常等の関与が報告されている(Kidney Int 67:217,2005)。しかしながら、UCの病態機序における免疫学的な機序の検討はない。以前から、UC類似の臨床・病理像を呈する特発性拡張型心筋症(idiopathic dilated cardiomyopathy (IDC))患者では高率に各種抗心筋抗体が検出され、免疫学的機序の関与が示されている(J Clin Invest 86:1658, 1990)。特に、心筋β1-adrenergic receptor (β1AR)に対する自己抗体は、モデル動物でIDC類似の病態を惹起し、IDC患者の30-40%に抗β1AR抗体検出されたことが報告されている(Circulation 99:649,1999; J Am Coll Cardiol 37: 418,2001)。更に、抗β1AR抗体陽性IDC患者に免疫吸着療法を行ったところ、循環動態の改善、心機能の改善が観察されている(Circulation 95:1994,1997; J Am Soc Cardiol 35:1590,2000)。我々はUCにおける免疫学的異常の存在を検討するために、pilot studyとして透析患者305名の抗β1AR抗体の測定を行ったところ、60名(約20%が陽性であり、高力価の症例も多く観察された。抗β1AR抗体陽性患者では心機能低下例が有意に高率で認められた(ERA-EDTA 2008, Stockholm)。この抗β1AR抗体陽性率は一般健常人や心疾患患者の数字に比して高く、UCの発症機序に自己免疫学的異常が重要な役割を果たしている可能性を示している。IDCでは、抗β1AR抗体以外にも様々な心筋抗体は検出されており、UCにおいても抗β1AR抗体以外の心筋自己抗体が存在することが推定される。従来、UCに対する研究では、酸化ストレス、CKD-MBDや内因性ジギタリス様物質の関与等に焦点が当てられ、免疫学的アプローチはほとんどなされていない。しかしながら、UCの病理組織所見、臨床像から考えると免疫学的機序がその病態に関与している可能性は高く、先述のpilot studyの結果もこれを裏付けている。本研究では、UC患者血清から包括的に抗心筋自己抗体をスクリーニン

グし、その自己抗原を同定することを第一の目的とし、その後に臨床的検討を行い、UCにおける自己免疫学的機序の側面について検討する。

2. 研究の目的

先述した様に、透析患者の抗β1AR抗体陽性率は一般健常人や心疾患患者の数字に比して高く、尿毒症性心筋症(uremic cardiomyopathy; UC)の発症機序に自己免疫学的異常が重要な役割を果たしている可能性を示している。Idiopathic dilated cardiomyopathy (DCM)では、抗β1AR抗体以外にも様々な心筋抗体は検出されており、UCにおいても抗β1AR抗体以外の心筋自己抗体が存在することが推定される。従来、UCに対する研究では、酸化ストレス、CKD-MBDや内因性ジギタリス様物質の関与等に焦点が当てられ、免疫学的アプローチはほとんどなされていない。しかしながら、UCの病理組織所見、臨床像から考えると免疫学的機序がその病態に関与している可能性は高く、先述のpilot studyの結果もこれを裏付けている。本研究では、

- 1) UC患者血清から既にUCの検討から判明している各種抗心筋自己抗体(抗ミオシン抗体、抗アドレナリン受容体抗体、抗ムスカリンM2受容体抗体や抗Na-K ATPase抗体等)をスクリーニングし、有精鶏卵を用いた心筋抑制性のbioassayとの関連を検討する。
- 2) 透析患者を対象に各種心筋抗体測定、心筋抑制性と心臓超音波による心機能などの臨床所見との関連をcross-sectional studyで検討し、抗心筋抗体の臨床的意義を確認する
- 3) 抗心筋抗体とUCの関連が確認されたら、アフレルシス療法を行い、抗心筋抗体除去による心機能の改善について検討する。

臨床研究から、免疫抑制療法や免疫吸着療法等のUCに対する新規の治療法への考察が得られると考えられる。維持透析患者での心不全、低左心機能状態は生命予後の悪化因子であるだけでなく、社会復帰や家庭生活での大きな障害となっている。また、通院困難状態から長期入院を余儀なくされるケースも少なくなく医療経済的な負担となっている。本研究結果は、透析患者の心不全状態への進展抑止、その社会復帰、QOL向上に寄与すると考える。

3. 研究の方法

1) CKD患者における心筋抗体のスクリーニング

CKDに患者におけるUCにおいて存在が報告されており、抗β1AR抗体、抗ムスカリンM2受容体抗体(抗M2R抗体)、抗ミオシン抗体、抗アドレナリン受容体抗体、や抗Na-K ATPase抗体を測定し、その頻度を検討する。

2) 有精鶏卵を用いた心筋抑制性のbioassay

CKD患者や腎不全モデルラット血清の心筋抑制性を評価し、その心筋抑制と抗心筋抗体価との

関連を評価する。

3) UC 合併患者における心筋抗体の臨床的意義

UC 合併患者と非合併患者における臨床的背景、抗心筋抗体価、及び抗心筋抗体の相違を検討し、UC における自己免疫機序について検討する。

4) UC 患者における抗体除去療法の有用性

抗心筋抗体陽性 UC 患者を対象に二重膜濾過血漿交換を行い、抗心筋抗体除去と心機能の関連を検討することにより抗体除去治療の有用性を評価する。

4. 研究成果

- ① 初年度である平成 21 年度は特発性拡張型心筋症(DCM)に高率に検出される抗心筋抗体の 1 つである抗β1 adrenergic receptor 抗体(β1ARAb)の ELISA 測定系を用いて、長期血液透析(HD)患者 305 名 (62.6 歳、女性 37.7%、HD 歴 121 ヶ月)を対象に測定、その抗体価と患者背景、心機能との関連を検討した。β1ARAb は 20%の HD 患者で陽性であったが (健康人の陽性率は約 5%)、患者背景にはβ1ARAb の有無で明らかな差違は認めなかった (表-1)。心臓超音波検査で測定した左心室駆出率 50%未満を低左心機能と定義すると、β1ARAb 抗体価と低左心室機能患者は有意な関連がみられ、尿毒症性心筋症においても DCM 同様、自己免疫的機序の存在が示唆された (図-1)。
- ② 透析患者血清の心筋抑制性について有精鶏卵を用いた bioassay にて検討した。心筋抑制性は 28%もの高率で確認され、心筋抑制性有りの患者では低左心機能患者が高率に認められ(odds 比 6.222, P=0.009)、尿毒症患者血清中には何らかの液性心筋抑制因子が存在することが裏付けられた (表-2)。心筋抑制性とβ1ARAb、抗 muscarinic receptor 抗体は有意な相関がみられ (β1ARAb, P=0.0001; 抗 muscarinic receptor 抗体, P<0.0001)、心筋抑制性を惹起する液性因子にβ1ARAb をはじめとする抗心筋抗体が関与していることが推測された。尿毒症性心筋症の病態生理に自己免疫的機序が関与する可能性が裏付けられたと考える。
- ③ 続いて、腎不全動物を用いて、UC モデルの作製を試みた。5/6 腎摘ラットに高タンパク食負荷を行い、4 週後に心筋組織を検討したところ、既に単核球を中心とした浸潤がみられ、8 週後には明らか線維化が認められ、UC と類似の病理所見を呈していた。病変部には type I collagen、TGF-βや fibronectin 等の遺伝子、タンパク発現が亢進していた。血清中の抗心筋抗体(β1AR)の陽性率は control に比較して有意に高かった。腎不全に伴う他の病態機序、特に renin-angiotensin 系異常及び CKD-MBD の関連を検討するために、angiotensin 変換酵素阻害薬、calcimimetics を投与したところ、各々薬剤は心筋線維化を抑制した。これらの効果は相加的であった。しかしながら、これら intervention による抗心筋抗体に対する効果はみられず、UC の病態には様々な機序が関与していることが推定された。つまり、UC には液性免疫の異常だ

けでなく、腎機能低下に伴う様々な機序により出現する可能性が示唆された。今後、免疫抑制剤等の intervention の可能性について検討する必要があると考えられた (図-2)。

- ④ 以上の知見を基に、内科的治療抵抗性の低左心機能症例でβ1ARAb が強陽性かつ bioassay で高度の心筋抑制性が患者にみられた血液透析患者 2 名に対する自己抗体除去療法、二重膜血漿交換(DFPP)療法の施行について当学倫理委員会に申請し、承認が得られた。2 名の患者とも DFPP 施行後はβ1AR 抗体価の著減が観察され、1 例においては施行直後から心機能の改善、血圧上昇、透析困難症の軽減が観察された。この患者は透析低血圧のために透析終了後、自力で帰宅困難であったが、治療施行後、透析低血圧症は著明な改善がみられ、独歩で帰宅可能となり、QOL は大幅に改善した。

表-1. 抗β1AR抗体有無による患者背景の違い

	陽性 (N=60)	陰性 (N=245)	P value
年齢 (歳)	59.9 ± 14.9	63.3 ± 11.7	0.1619
女性	21 (35.0%)	94 (38.5%)	0.6587
透析歴 (月)	109.2 ± 85.7	124.7 ± 97.0	0.4487
原疾患			
-慢性糸球体腎炎	31 (51.7%)	115 (46.9%)	
-糖尿病性腎症	13 (21.7%)	69 (28.2%)	
-腎硬化症	6 (10.0%)	36 (14.7%)	0.3609
-塞動腎	4 (6.7%)	7 (2.9%)	
-その他	0 (0%)	3 (1.2%)	
-不明	6 (10.0%)	15 (6.1%)	
合併症			
-脳血管障害	21 (35.0%)	54 (22.0%)	0.2982
-虚血性心疾患	19 (31.7%)	49 (20.0%)	0.4970
-末梢動脈疾患	23 (38.3%)	57 (23.2%)	0.5109

Mean±SD

表-2. 心筋抑制性有無による患者背景及び低左心機能症例との関連

	心筋抑制性 (-)	心筋抑制性 (+)
N	229	89
年齢 (歳)	62.0±13.0	64.0±11.0
女性 (%)	35.5	45.1
透析歴 (年)	10.5±8.2	9.1±8.2
糖尿病 (%)	23.1	24.4
左心室駆出率 (%)	64.7±11.0	62.2±13.0
- <50% (%)	2.2	12.2

	心筋抑制性 (-)	心筋抑制性 (+)	P=0.0009 Odds 6.222 (2.059-18.81)
左心室駆出率<50%	5	17	
左心室駆出率≥50%	224	72	

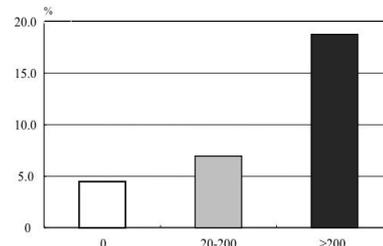
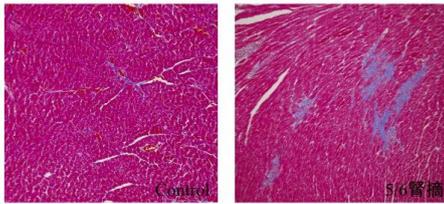


図-1. 抗β1AR抗体価と低左心室機能(EF < 50%)症例



(Masson trichrome染色)

図-2A 腎摘4週後の心臓間質の線維化

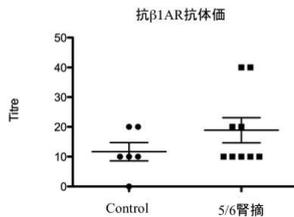


図-2B 腎摘4週後の抗β1AR抗体価

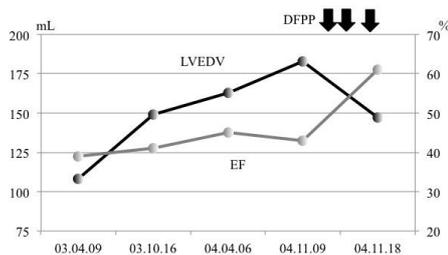


図-3. 抗β1AR抗体陽性のUC合併透析患者におけるDFPPの心機能に対する効果

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 16 件)

- 1) Hosaka N, Ogata H, et al. Elastin degradation accelerates phosphate-induced mineralization of vascular smooth muscle cells. *Calcif Tissue Int* 85:523-9, 2009.
- 2) Ito H, Ogata H, et al. Comparison of oral falecalcitriol and intravenous calcitriol in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism: a randomized, crossover trial. *Clin Nephrol* 71:660-8,2009
- 3) Mizobuchi M, Ogata H, et al. Vitamin D and vascular calcification in chronic kidney disease. *Bone* 45 (Suppl 10):S26-9,2009
- 4) Gugliucci A, Ogata H, et al. The free fraction of paraoxonase 1 is not increased in patients with end stage renal disease undergoing

hemodialysis. *Clin Chim Acta* 402(1-2):209-10,2009

- 5) Ogata H, Kumata-Maeta C, et al. Detection of peripheral artery disease by duplex ultrasonography among hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 5:2199-206,2010
- 6) Kumata C, Ogata H, et al. Involvement of alpha-klotho and fibroblast growth factor receptor in the development of secondary hyperparathyroidism. *Am J Nephrol* 31:230-8,2010.
- 7) Mizobuchi M, Ogata H, et al. Effects of calcimimetics combined with an angiotensin-converting enzyme inhibitor on uremic cardiomyopathy progression. *Am J Nephrol* 34:256-267,2011
- 8) Kotani K, Ogata H, et al. Correlation between ischaemia-modified albumin and intermediate-density lipoprotein in haemodialysis patients with end-stage renal disease. *J Int Med Res* 39:1541-5,2011
- 9) Kumata C, Ogata H, et al. Involvement of matrix metalloproteinase-2 in the development of medial layer vascular calcification in uremic rats. *Ther Apher Dial* 15 (Suppl):18-22,2011
- 10) Aoshima Y, Mizobuchi M, Ogata H, et al. Vitamin D receptor activators inhibit vascular muscle cell mineralization induced by phosphate and TNF- α . *Dial Transplant* 27:1800-6,2012
- 11) Yamamoto M, Ogata H, et al. Number of enlarged parathyroid glands might be a predictor of cinacalcet response in advanced secondary hyperparathyroidism. *Clin Exp Nephrol* 16:292-299,2012
- 12) 溝渕正英、緒方浩顕、小岩文彦. 透析患者の心血管病変に対し calcimimetics は治療手段になり得るか. *日透会誌* 44:1133-1135,2011
- 13) 緒方浩顕、衣笠えり子. CKD の治療概念からみら腎代替治療における導入期の見直し. *腎と透析* 71:325-330,2011
- 14) 緒方浩顕、衣笠えり子. 【腎代替療法の問題点を再考する】CKD の治療概念からみた腎代替療法における導入期の見直し 血液透析療法. *腎と透析* 71:325-30,2011
- 15) 馬場彰泰、緒方浩顕、他. 透析患者の心筋症を考える 抗心筋抗体と透析患者の心不全. *日透会誌* 44:292-3,2011
- 16) 緒方浩顕、溝渕正英、他. カルシウム・リン代謝の管理と生命予後 シナカルセトの作用機序と適応. *日透会誌* 44:46-8,2011

[学会発表] (計 9 件)

- 1) 緒方浩顕、尿毒症性心筋症における自己免疫的機序の関与—アファレシス治療の可能性、第 30 回日本アファレシス学会学術大会 (2009 年 9 月 11 日、札幌)
- 2) 武重由依、緒方浩顕、他. 尿毒症性心筋症における自己免疫的機序の関与とアフェレシス治療、第 26 回日本医工学治療学会学術大会 (2010 年 4 月 3 日、東京)

- 3) Takeshige Y, Ogata H, et al. Antibodies against α -1-adrenergic receptors are prevalent in hemodialysis patients with low cardiac function, 国際腎臓学会 NEXUS Symposium (2010年4月17日、京都)
- 4) Takeshige Y, Ogata H, et al. Humoral Cardiodepressant factors are prevalent in long-term hemodialysis patients with low cardiac function, 欧州腎臓・透析・移植連合会 (2010年5月26日、Munich, Germany)
- 5) 竹島亜希子、緒方浩顕、他. 血液透析患者血清中の心筋抑制因子と抗心筋抗体、抗 β 1アドレナリン受容体抗体の関連、第53回日本腎臓学会学術総会 (2010年6月16日)
- 6) 緒方浩顕. 尿毒症性心筋症に対する血漿交換療法、第31回日本アフェレンス学会学術大会 (2010年11月5日、浦安市)
- 7) 緒方浩顕. 教育講演 7. 腎不全患者におけるビタミンD治療の意義、第56回日本透析医学会学術集会. (2011年6月18日、横浜)
- 8) 溝渕正英、緒方浩顕、他. 5/6腎摘ラット高P血症と心筋リモデリング、第56回日本透析医学会学術集会. (2011年6月18日、横浜)
- 9) 青嶋弓恵、緒方浩顕、他. 高P及びTNF- α 刺激による血管平滑筋細胞に対するオキサロールの効果、第56回日本透析医学会学術集会. (2011年6月18日、横浜)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0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0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

緒方 浩顕 (OGATA HIROAKI)
昭和大学・医学部・講師

研究者番号：30296959

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：