

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 16 日現在

機関番号:13101

研究種目:若手研究(B)

研究期間:2009 ~ 2011

課題番号:21790971

研究課題名(和文) 慢性移植腎症の病態解明と早期診断を目的としたバイオマーカーの開発

研究課題名(英文) Development of biomarkers for the elucidation of pathophysiology and early diagnosis of chronic allograft nephropathy

研究代表者

鈴木 俊明(SUZUKI TOSHIAKI)

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号:50419305

研究成果の概要（和文）：

移植腎機能喪失の主要な原因である慢性移植腎症（CAN）の臨床的診断は困難で、小児患者にも安全で非侵襲的な診断法はない。我々は、これまでに活性化マクロファージ（Mφ）の亜型である CD163 陽性 Mφ が組織の慢性化病変の形成に関与することを報告してきた。

今回は、患者尿で CD163 抗原の定量を行い、組織所見、臨床所見との関連を検討した。腎生検組織において、間質の CD163 陽性 Mφ 数と線維化が正の相関を示し、尿中 CD163 の値は急性期を過ぎた安定期の移植腎機能および間質の線維化と相関を認めた。

CAN の進展に、CD163 陽性 Mφ が深く関わっており、尿中 CD163 は CAN 早期診断のための非侵襲的なマーカーとして使用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Chronic allograft nephropathy (CAN) is the major cause of failure of renal graft function. It has posed diagnostic challenge and there have been no non-invasive diagnostic procedures of CAN that is also safe for pediatric patients.

We have previously reported that activated macrophages (Mφ) play a major role in renal tissue impairment and fibrosis and shown that CD163-positive Mφ, one of Mφ subtypes, may be involved in the formation of chronic lesions.

In this study, we measured urinary CD163 antigen levels and investigated their correlation with histological and clinical findings. In renal biopsy specimens, the number of interstitial CD163-positive Mφ was positively correlated with severity of fibrosis. The urinary CD163 levels were also correlated with renal graft function in the stable phase after the acute phase and may indicate the degree of progression of renal graft fibrosis.

These results suggest that CD163-positive Mφ is deeply involved in the progression of CAN and the urinary CD163 can be used as a non-invasive marker for the early diagnosis of CAN.

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	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：慢性移植腎症、マクロファージ、CD163 抗原、間質線維化

1. 研究開始当初の背景

新規免疫抑制薬の開発などにより、急性拒絶反応を生じる率は減少し、急性期の移植腎生着率は近年大きく向上している。現在は更なる長期生着を目指し、長期的な移植腎機能廃絶、いわゆる慢性移植腎症（chronic allograft nephropathy: CAN）の克服が重要な課題となっている。

CAN は免疫学的要因によるものと非免疫学的要因によるものに大別されるが、いずれの場合にも、進行性の移植腎機能低下を認め、組織学的には、間質線維化・尿細管萎縮・糸球体硬化などの慢性糸球体腎炎の慢性化所見に類似した像を呈する。対策として早期診断が重要であるにも関わらず、臨床的に早期診断することは極めて困難であり、腎機能障害のない安定期に腎生検を行うプロトコール生検が唯一の診断方法である。しかし、治療に反映させて長期予後改善につなげるための腎生検時期も現時点では明らかではない。さらに、腎生検を頻回に繰り返すことは、小児においては大変な侵襲を伴うことになり、小児患者にも安全で非侵襲的な CAN の早期診断法は存在しないのが現状である。

2. 研究の目的

これまでに我々は、各種の糸球体腎炎で活性化マクロファージ（Mφ）が腎の組織障害・線維化に深く関与することを報告してきた。Mφの腎組織への浸潤は炎症性・非炎症性を問わず全ての腎疾患の進展過程で普遍的にみられる現象である。

最近、Mφの活性化様式について、サイトカインの産生パターンによって分類可能な炎症型（M1）と組織修復型（M2）という2通りの亜系が存在するという概念が定着し、病期や病態に応じて異なった機能をもつ Mφ が病変組織像の形成に関与していることが明らかになりつつある。

我々もこうした Mφ 亜型を組織中で判別することにより、病巣における Mφ 機能の解明およびその制御法の開発に取り組んでおり、M2 型と考えられる CD163 陽性 Mφ が組織の慢性化病変の形成に関与している可能性を見出している。

本研究の目的は、上述の Mφ が CAN の進展に関わっていることを確認し、CAN 早期診断のためのバイオマーカーとして利用できるかどうかを明らかにすることである。

3. 研究の方法

1992年-2008年に腎移植を行った小児18例（移植時年齢3-18歳）を対象として、以下の検討を行なった。

(1) 腎生検組織中のM2抗原陽性Mφの同定と組織障害度との関連解析

汎マクロファージマーカーとしてCD68、M2マクロファージマーカーとしてCD163、線維化マーカーとして α -smooth muscle actin (α -SMA)の発現について、これらに対する特異抗体を用いて免疫染色を行なった。

間質線維化領域は、コンピュータ画像解析により、 α -SMA陽性領域が単位面積あたりに占める割合として算出した。同時に、単位面積あたりのCD163陽性Mφ数を算出し、組織の障害度および臨床所見（尿所見、腎機能、移植後年数）との相関を検討した。

(2) 尿中M2抗原の定性・定量解析

上述のM2抗原のうち、CD163は可溶性抗原であることが知られている。

臨床的に明らかな急性拒絶を認めず、移植後の安定期に、経時的にELISAにより尿中CD163を定量し、組織所見、臨床所見（尿所見、腎機能）との関連を検討した。

測定時の免疫抑制療法は、ステロイド、カルシニューリンインヒビター、代謝拮抗薬の3剤を併用していた。

4. 研究成果

免疫染色では、線維化部に一致してCD163陽性Mφの浸潤が認められた。また、CD163およびCD68を用いた二重染色ではこれらの細胞が一致しており、CD163陽性細胞はいずれもマクロファージの亜型であることが確認された。

尿細管間質のCD163陽性Mφは、線維化の程度と優位な相関が認められ、その局在は線維化部と一致していた（図1）。

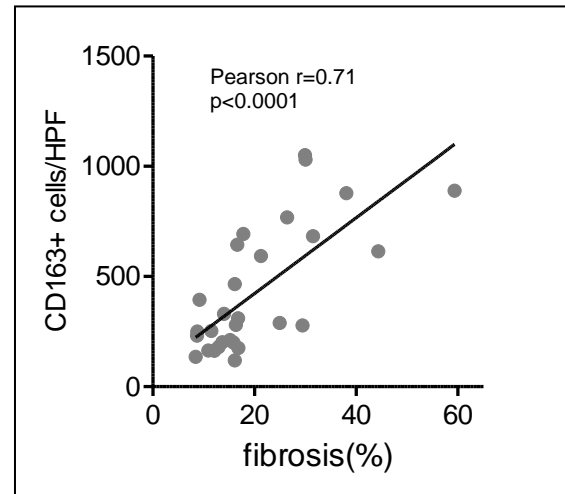


図1

尿細管間質のCD163陽性マクロファージ数と尿中CD163の値は有意な正の相関が認められた（図2）。さらに、間質の線維化の程度と尿中CD163値の間にも有意な正の相関を認めた（図3）。

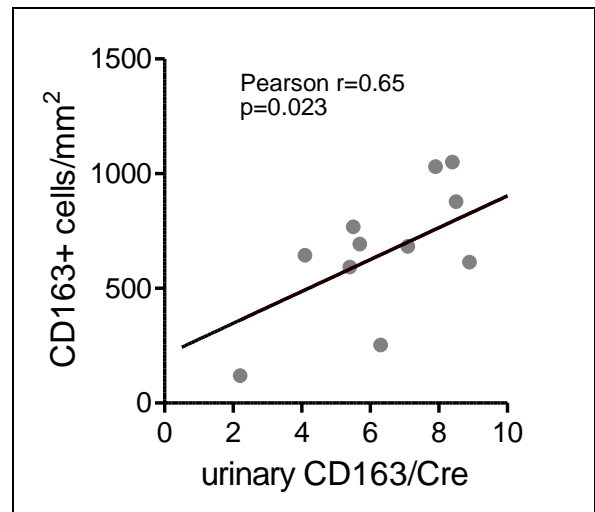


図2

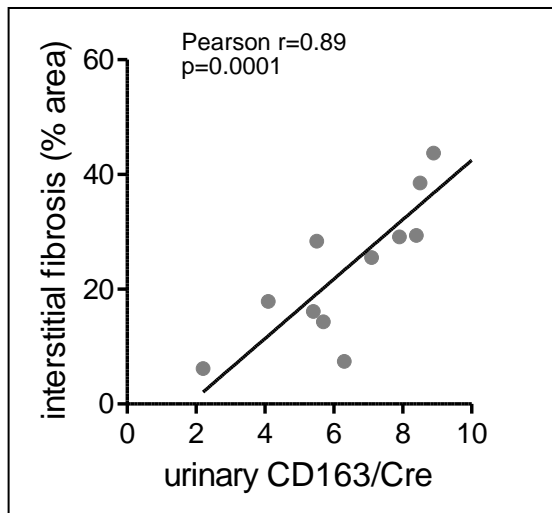


図 3

尿中 CD163 の値と推定 GFR の間には負の相関があった。移植後、長期経過していても、移植腎機能が良好な症例では尿中 CD163 の上昇が認められず、移植後年数との間には相関がみられなかった。

今回の検討から、CD163 陽性の M2 マクロファージは、CAN の進展に伴ってみられる組織線維化に関わっている可能性が強く示唆された。さらに、尿中 CD163 が、CAN の非侵襲的なマーカーとして使用できる可能性が示唆された。

今後は、CAN の早期発見のための適切な腎生検時期の同定に、尿中 CD163 の値を参考にしていくこと、M2 マクロファージをターゲットとした慢性期の免疫抑制療法を検討していくこと、などに応用していくことが期待できる。

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 8 件)

- ① 鈴木俊明, 池住洋平, 唐澤環, 長谷川博也, 内山聖, 中川由希, 斎藤和英, 高橋公太, 石原俊二, 原正則, 柳原俊雄. Nonadherence を原因とする拒絶反応から、移植腎機能低下をきたした 13 歳男児例思春期における腎移植後患児の Nonadherence について: 日本小児腎臓病学会雑誌 25; 58-62, 2012 (査読あり)
- ② Ikezumi Y, Suzuki T, Karasawa T, Hasegawa H, Yamada T, Imai N, Narita I, Kawachi H, Polkinghorne KR, Nikolic-Paterson DJ, Uchiyama M. Identification of alternatively activated macrophages in new-onset paediatric and adult immunoglobulin A nephropathy: potential role in mesangial matrix expansion: Histopathology 58; 198-210, 2011 (査読あり)
- ③ 鈴木俊明, 池住洋平, 唐澤環, 長谷川博也, 高橋雄一, 山田剛史, 内山聖. 治療反応性および経過が全く異なる、Diffuse Mesangial Sclerosis の 3 例: 日本小児腎不全学会雑誌 31; 169-171, 2011 (査読なし)
- ④ Ikezumi Y, Suzuki T, Karasawa T, Hasegawa H, Kawachi H, Nikolic-Paterson DJ, Uchiyama M. Contrasting effects of steroids and mizoribine on macrophage activation and glomerular lesions in rat thy-1 mesangial proliferative glomerulo- nephritis: Am J Nephrol 31; 273-82, 2010 (査読あり)

- ⑤ 池住洋平, 鈴木俊明, 唐澤環, 長谷川博也, 内山聖. 慢性糸球体腎炎における活性化マクロファージ: 日本小児腎臓病学会雑誌 23; 134-140, 2010 (査読あり)
- ⑥ 池住洋平, 鈴木俊明, 唐澤環, 山田剛史, 長谷川博也, 内山聖, 原正則, 柳原俊雄. 慢性移植腎症の成因における M2 マクロファージの関与: 日本小児腎不全学会雑誌 30; 296-298, 2010 (査読なし)
- ⑦ 鈴木俊明, 池住洋平. 知的障害児における腎移植前後の変化: 今日の移植 23; 231-233, 2010 (査読なし)
- ⑧ 鈴木俊明, 池住洋平, 唐澤環, 山田剛史, 長谷川博也, 内山聖, 中川由紀, 斎藤和英, 高橋公太. 下大静脈閉塞を有する女児に対し、小児ドナーの二次献腎移植を行った 1 例: 日本小児腎不全学会雑誌 30; 142-144, 2010 (査読なし)

[学会発表] (計 5 件)

- ① 鈴木俊明、慢性移植腎症の進展マーカーとしての尿中 CD163 測定、日本小児腎不全学会、2011.10.20、焼津市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 俊明 (SUZUKI TOSHIAKI)
新潟大学・医歯学総合病院・助教
研究者番号: 50419305

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: