

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790964

研究課題名(和文)腎疾患における抗炎症性マクロファージの誘導と治療応用

研究課題名(英文)The induction of anti-inflammatory macrophage for clinical approaches to adoptive transfer for kidney disease

研究代表者

藤田 恵美子(FUJITA, EMIKO)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：70600617

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は実験的腎疾患における抗炎症性マクロファージの誘導機序を解明し、その応用による新しい治療法の開発を目指すものである。In vitroで誘導した抗炎症性マクロファージの特徴を明らかにし、実験的糸球体疾患への細胞移入によるin vivoでの病変進展の抑制効果に関する検証を行った。また、ヒト糸球体腎炎を含む腎疾患の疾患活動性とマクロファージの形質との関係を検討し、腎生検病理組織診断におけるマクロファージの形質の観察の重要性を確認した。

研究成果の概要(英文)：The Aim of this study is to investigate the induction of anti-inflammatory macrophages in experimental nephritis and to verify its potential use in nephritis therapy. We research for molecular biological characteristics of induced anti-inflammatory macrophages in vitro, and then verify that adoptive transfer of these macrophages might have effectiveness in experimental nephritis. In human glomerulonephritis, we assess that macrophage phenotype might have relevance to disease activity and confirm that the importance of to evaluate the macrophage phenotype when making histological decisions about renal biopsy histology.

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：糸球体腎炎 マクロファージ 炎症細胞 炎症 腎臓 病理学

1. 研究開始当初の背景

マクローファージは各種炎症に関与し、炎症性疾患における主役的役割を担っている。腎疾患においても、マクローファージがその発症や進展に関与している。近年、マクローファージには多様性があることが知られるようになった。本研究では、実験的腎疾患における抗炎症性マクローファージの解明とヒト腎疾患におけるマクローファージの質の関与について検討した。

2. 研究の目的

- (1) ヒト系球体腎炎を含む腎疾患の疾患活動性とマクローファージの形質との関係を明らかにし、腎生検病理組織診断におけるマクローファージの形質の観察の重要性を明確にする。
- (2) in vitro で抗炎症性マクローファージの性質を検討し、実験的腎疾患における抗炎症性マクローファージの関与を解明する。

3. 研究の方法

ヒト腎疾患での検討

- (1) 当院におけるヒト腎生検検体から、マクローファージ浸潤を多く認める管内増殖性腎炎・糖尿病性腎症・間質性腎炎を抽出し、免疫染色 (CD68・TNF- α 、CD169、MPO、CD163、CCL17 など)、マイクロダイセクションで糸球体を単離して real-time PCR や western-blotting (IFN- γ 、MCP-1、IL-6、IL-4、IL-13、IL10、CCL17 など) でサイトカイン環境を検討した。
- (2) (1) で得られたマクローファージの形質と、各症例の臨床情報から得られる治療反応や予後との関連を検討した。

実験腎炎での検討

- (3) ラット実験腎炎を惹起し、抗炎症性マクローファージのマーカーと考えられる CD163、HO-1、IL10、ED2 など免疫染色を行う。また、単離糸球体を用いて real-time PCR で糸球体内のサイトカイン環境を検討する。マクローファージと関連する免疫担当細胞である T 細胞、樹状細胞などを併せて免疫染色して検討する。
- (4) in vitro でラットマクローファージ (脾臓・骨髄・末梢血由来) に IL4・IL13 を加えて抗炎症性マクローファージを誘導し、その産生サイトカイン/細胞表面マーカーを検討する。さらに、誘導した抗炎症性マクローファージを腎炎ラットへ細胞移入し、腎保護効果について検討する。

4. 研究成果

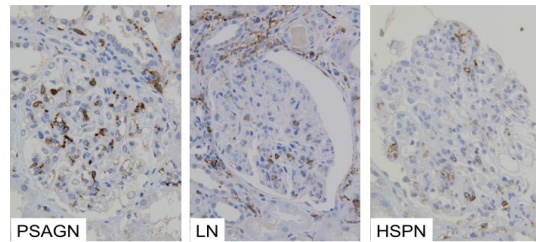
ヒト腎疾患での検討

管内増殖性腎炎を呈する、溶連菌感染後急性糸球体腎炎 (PSAGN) 症例 16 例、ループス腎炎 23 例、紫斑病性腎炎 (HSPN) 症例 23 例を抽出し、前出の各種抗体で免疫染色を行い糸球体内に浸潤するマクローファージを検討したところ、CD163 陽性マクローファージは PSAGN 症例で多くループス腎炎で少ない傾向を認

めた。抗炎症性マクローファージ優位なサブpopulation を呈する PSAGN 症例では腎予後が良好であり、抗炎症性マクローファージの浸潤の少ないループス腎炎では腎予後が不良である傾向を認めた。

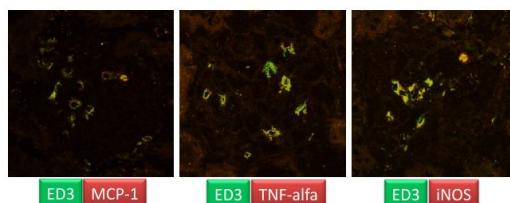
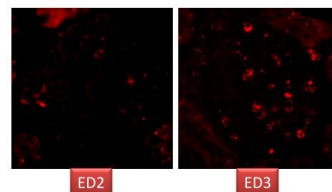
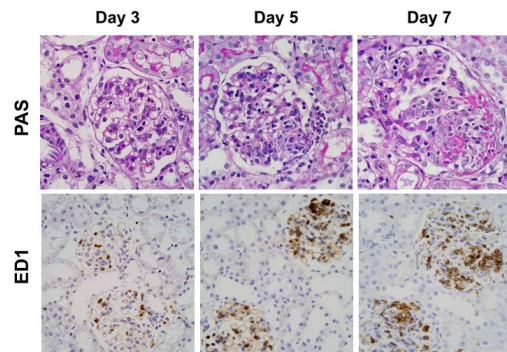
Characteristic	PSAGN (n=16)	SLE (n=23)	HSPN (n=23)
Age	18.9±3.9	30.7±4.2	18.7±3.7
Female(%)	46.7	77.3	31.8
CRE(mg/dl)	1.17±0.23	1.46±0.25	1.13±0.51
BUN(mg/dl)	23.9±5.3	27.8±3.8	15.0±1.6

Characteristic of infiltrating cells (CD163)

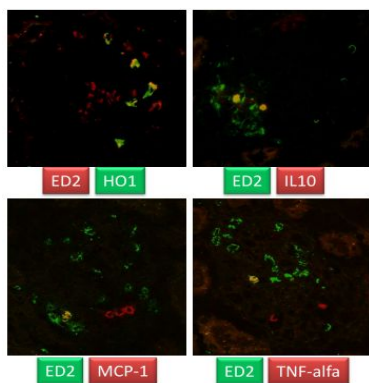


実験腎炎での検討

マクローファージや T 細胞が主体となって腎炎が進行するラットの抗糸球体基底膜 (anti GBM) 腎炎をもちいて検討を行った。進行性の糸球体腎炎であり最終的には腎死に陥るモデルである anti GBM 腎炎では、浸潤するマクローファージが ED3 陽性が主であった。また、これらの ED3 マクローファージは MCP-1 や TNF- α や iNOS が陽性であり炎症性マクローファージと考えられた。



このモデルに対して、抗炎症性マクロファージを誘導する statin(atorvastatin20mg/kg)を投与すると急性期の腎障害が軽減した。浸潤マクロファージは ED2 の割合が増加しており ED2 陽性マクロファージは HO-1 や IL10 が陽性であったが、ED3 が発現していた MCP-1 や TNF- は発現していなかった。ED2 陽性マクロファージはこれらのサイトカインを介して抗炎症作用を発揮していると考えられた。



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Post-infectious acute glomerulonephritis and transient coagulation factor XIII deficiency associated with acute parvovirus B19 infection in a young woman--reply.

Shimizu A, Fujita E, Mii A, Kaneko T, Tsuruoka S
Hum Pathol, 査読有り、 2013 Jun;44(6):1193-4

原著 : Proliferative glomerulonephritis with monoclonal immunoglobulin G3κ deposits in association with parvovirus B19 infection.

Fujita E, Shimizu A, Kaneko T, Masuda Y, Ishihara C, Mii A, Higo S, Kajimoto Y, Kanzaki G, Nagasaka S, Iino Y, Katayama Y, Fukuda Y.

Hum Pathol. 査読有り、 2012 Dec;43(12):2326-33.

症例報告 : A case of (double) ANCA - negative granulomatosis with polyangiitis (Wegener's).

Kashiwagi T, Hayama N, Fujita E, Hara K, Mii A, Masuda Y, Iino Y, Shimizu A, Katayama Y, Fukuda Y

CEN Case Rep. 査読有り、 2012; 1:104-111.

〔学会発表〕(計 6 件)

一般講演 : Fujita E, Shimizu A, Mii A, Masuda Y, Tsuruoka S

Endothelial cell injury may involved in pathogenesis of secondary focal segmental glomerulosclerosis associated with myeloproliferative disease. ASN Kidney Week 2013(Atlanta), 2013.11.

一般講演 : Fujita E, Shimizu A, Mii A, Masuda Y, Tsuruoka S

Clinicopathological characteristics of minimal change disease with glomerular foam cell infiltration. ASN Kidney Week 2013(Atlanta), 2013.11.

一般講演 : Fujita E, Shimizu A, Mii A, Masuda Y, Tsuruoka S

Endothelial cell injury contributes to the formation and development of extracapillary lesions in crescentic glomerulonephritis. ASN Kidney Week 2013(Atlanta), 2013.11.

一般講演: Fujita E, Shimizu A, Kaneko T, Masuda Y, Mii A, Yamada T, Nagasaka S, Iino Y, Katayama Y, Fukuda Y

Proliferative glomerulonephritis with monoclonal IgG deposits associated with immune disorder by parvovirus B19 or hepatitis C virus infection. ASN Kidney Week 2012(San Diego), 2012.11.

一般講演: 三井亜希子, 清水 章, 金子朋広, 藤田恵美子, 益田幸成, 飯野靖彦, 片山泰朗: 管内増殖性病変における糸球体毛細血管傷害の検討. 日本腎臓学会学術総会(第 55 回), 2012.6.

一般講演: 安田文彦, 清水 章, 三井亜希子, 藤田恵美子, 金子朋広, 益田幸成, 飯野靖彦, 福田 悠, 片山泰朗

RPS により提唱された糖尿病性腎症の組織病理分類. 日本腎臓学会学術総会(第 55 回), 2012.6

〔図書〕(計 3 件)

藤田恵美子, 鶴岡秀一、医学出版, 月刊レジデント 6 巻 9 号、2013, 20

藤田恵美子, 清水章、他、東京医学社、腎と透析 75 巻 5 号、2013, 747

宮本大資、藤田恵美子、鶴岡秀一、東京医学社、成人病と生活習慣病 44 巻 2 号、2014, 158

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nms.ac.jp/nephro/study.html>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

藤田 恵美子 (FUJITA, Emiko)

日本医科大学医学部・助教

研究者番号 : 70600617

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし