

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：32651

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659419

研究課題名(和文)CD26の腎疾患における先端治療法としての分子標的療法の基礎的研究

研究課題名(英文)Fundamental studies of therapies that target the CD26 molecule as a treatment in kidney disease

研究代表者

小林 政司(KOBAYASHI, Seiji)

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：80408400

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：CD26はdipeptidyl peptidase (DPP) 酵素を含む分子である。CKD患者における血清の可溶性CD26濃度及びCD26DPP 活性の検討を行なった結果、両者とも腎機能に依存しないことが判明した。さらに生物学的製剤の治療を受けた関節リウマチ患者における血清の可溶性CD26濃度及びCD26DPP 活性はRAの活動性の指標であるDAS-28ESR及びDAS-28CRPのいずれとも有意な負の相関を示した。以上のことから可溶性CD26は腎機能に依存せず炎症性疾患において疾患活動性の有力なバイオマーカーとなり得る可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：CD26 is a T-cell activation antigen that contains dipeptidyl peptidase IV (DPP) activity and binds adenosine deaminase. We examined serum soluble CD26 levels and CD26 DPP activity in patients with CKD. We have demonstrated that soluble CD26 and CD26 DPP activity in the serum does not depend on renal function. We also investigated that soluble CD26 levels and CD26 DPP activity in the serum of patients with rheumatoid arthritis treated with biologic disease-modifying anti-rheumatic drugs. We showed that soluble CD26 levels and CD26DPP activity in the serum exhibited significantly negative correlation of DAS-28ESR and DAS-28CRP. Our results suggest that Soluble CD26 is a one of the biomarkers in inflammatory diseases that is not dependent on renal function.

研究分野：腎臓病学

キーワード：CD26 難治性糸球体腎炎 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

CD26 は dipeptidyl peptidase (DPP) 酵素を含む T 細胞共刺激分子の一つで、T 細胞増殖活性に重要である。CD26 陽性メモリー T 細胞は B 細胞の抗体産生を誘導するとともに、血管内皮細胞間の遊走能をもち、炎症部位へ移動・集積し、炎症局所で重要な役割を果たしている。CD26 はリンパ球のみならず、腎臓、腸管、血管内皮を含む様々な細胞表面に発現している。CD26DPP により切断されたペプチドホルモン及びケモカインは糖尿病、腫瘍、移植後拒絶反応などに関与している。近年 DPP 阻害剤による glucagon-like peptide-1 (GLP-1) を介した糖尿病治療の有効性が注目されている。一方、SLE 患者では血清中の可溶性 CD26 レベルが低く病期の活動性と強い相関を示す。腎疾患では種々の免疫異常の関与が指摘されているが、CD26 に関する詳細な検討はなされていない。腎疾患及び腎障害を伴う自己免疫性疾患の可溶性 CD26 及び CD26DPP 酵素活性を検討することはこれらの疾患における新たなバイオマーカーを提供するものと期待される。

2. 研究の目的

腎疾患及び自己免疫性疾患患者における CD26 の分子動態を解明すると共に、CD26 を分子標的とした生物学的製剤による CD26 陽性 T 細胞機能を制御し、腎疾患及び膠原病における免疫病態、疾患活動性、生物学的製剤による新規治療法の確立及びバイオマーカーの開発を目指した研究を行なう。

3. 研究の方法

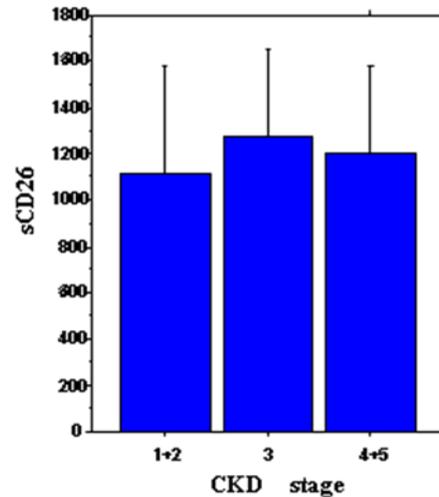
(1) 腎疾患患者、慢性腎臓病患者及び膠原病患者において、ELISA を用いた血清の可溶性 CD26 濃度及び CD26DPP 活性の測定を行ない、CD26DPP のバイオマーカーとしての有用性に関する解析を行なう。血清中の可溶性 CD26 に関して抗 CD26 抗体でコートしたプレートを用いた ELISA 法にて測定する。同時に基質を加えて血清中の可溶性 CD26DPP の特異的酵素活性を測定する。

(2) 腎障害をきたす膠原病患者の血清の可溶性 CD26 及び CD26DPP 活性の経時的変化とその他の疾患活動性指標とを統計学的に解析し、新たなバイオマーカーとしての有用性を検討する。

4. 研究成果

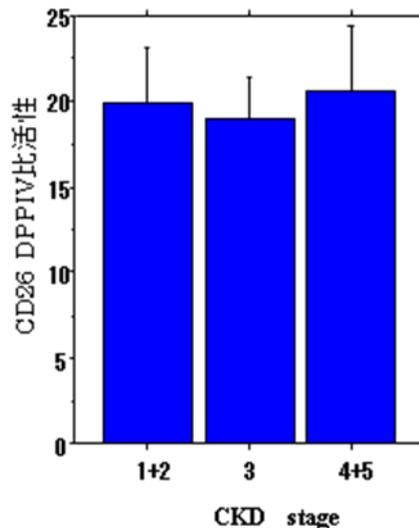
(1) 慢性腎臓病における血清 CD26 の分子動態を検討するため、腎疾患または自己免疫性疾患を有する CKD 患者における血清の可溶性 CD26 濃度及び CD26DPP 活性の測定を行なった。対象は 68 名、平均年齢  $62 \pm 14$  歳であった。CKD stage1+2 群は 40 名 (男 16 名) で平均年齢  $62 \pm 14$  歳、CKD stage3 群は 20 名 (男 8 名) で平均年齢  $68 \pm 12$  歳、CKD stage4+5 群は 8 名 (男 4 名) であった。CKD の各 stage における血清可溶性 CD26 は CKD stage1+2

群:  $1162 \pm 421$  ng/ml, CKD stage3 群:  $1173 \pm 400$  ng/ml, CKD stage 4+5 群:  $1378 \pm 462$  ng/ml と 3 群では有意差は認められなかった (図 1)。



(図 1)

一方、血清 CD26DPP 活性比は、CKD stage1+2 群:  $19.7 \pm 3.0$  nmol/min/ $\mu$ g, CKD stage3 群:  $19.7 \pm 2.5$  nmol/min/ $\mu$ g, CKD stage 4+5 群:  $19.9 \pm 3.7$  nmol/min/ $\mu$ g と 3 群間では有意差は認められなかった (図 2)。



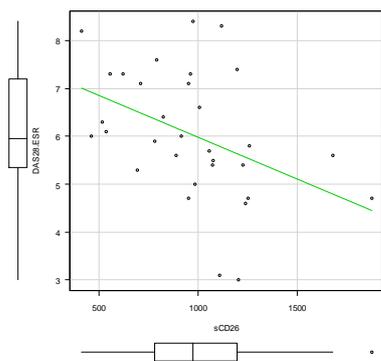
(図 2)

血清可溶性 CD26 は一部の疾患においてその濃度の増減を認める事が報告されている。また血清 CD26DPP 活性も疾患によりその活性比が低下する事が報告されている。本研究では CKD の各 stage における血清 CD26DPP 及び CD26DPP 活性の有意差は認められなかったが、CKD の各 stage 内における血清 CD26DPP の増減を認めた。

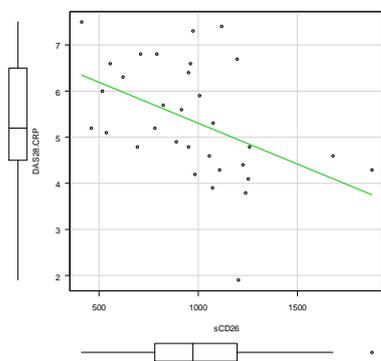
(2) 可溶性 CD26 分子が腎機能障害による影響を受けないことが判明したことから、腎病理組織検査にて半月体形成性糸球体腎炎を認める ANCA 関連血管炎患者において血清 CD26DPP 及び CD26DPP 活性を検討した。その結果、ANCA 関連血管炎治療前後において、腎機能障害の程度に関わらず、疾患活動性が高い時は血清の可溶性 CD26 濃度及び CD26DPP 活性は共に低値であったが、治療に伴い疾患活動性が低下するに従って可溶性 CD26 濃度及び CD26DPP 活性は治療前値より上昇する傾向が認められた。今回我々が解析した症例数は 5 症例と少なく、また ANCA 関連血管炎の発症率が低いことを考慮すると、今後も症例を蓄積し継続して検討する必要があると考えられた。

(3) 可溶性 CD26 分子が腎障害をきたす自己免疫性疾患における疾患活動性のバイオマーカーとなり得る可能性が示唆されたので、可溶性 CD26 分子が生物学的製剤による治療を受けている腎障害をきたす自己免疫性疾患のバイオマーカーにもなり得るかを検討した。そこで生物学的製剤による治療を要する関節リウマチ患者における血清の可溶性 CD26 濃度及び CD26DPP 活性の測定を行った。対象は関節リウマチ患者 31 例で、追跡期間は 28 週間、DAS-28ESR :  $5.98 \pm 1.28$ , DAS-28CRP :  $5.32 \pm 1.26$  であった。

ベースラインの可溶性 CD26 は RA の活動性の指標である DAS-28ESR 及び DAS-28CRP とも有意な負の相関を示した (図 3、図 4)。

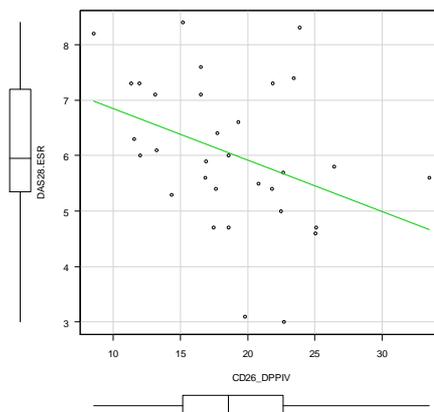


(図 3)

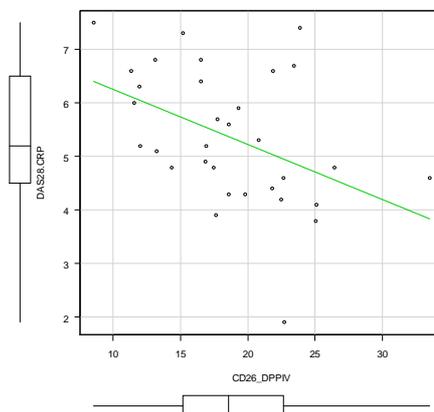


(図 4)

ベースラインの CD26DPP 活性は、RA の活動性の指標である DAS-28ESR 及び DAS-28CRP のいずれとも有意な負の相関を示した (図 5、図 6)。



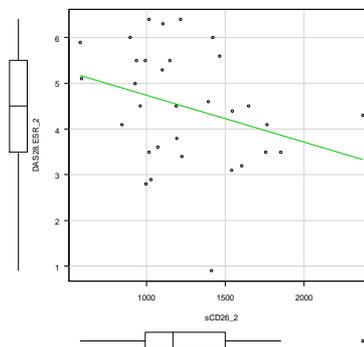
(図 5)



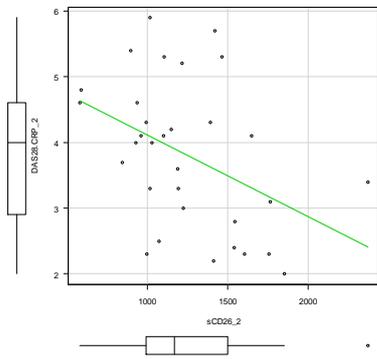
(図 6)

このことから可溶性 CD26 値及び CD26DPP 活性が低いほど RA の疾患活動性が高いことが示唆された。

さらに生物学的製剤の治療による疾患活動性の改善に伴う可溶性 CD26 の変化量は DAS-28ESR 及び DAS-28CRP のいずれの変化量とも有意な負の相関を示した (図 7、図 8)。



(図 7)



(図 8)

以上のことから、可溶性 CD26 は炎症性疾患において疾患活動性の有力なバイオマーカーとなり得る可能性が示唆された。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

小林政司、腎機能障害が血清可溶性 CD26 及び CD26DPP1V 活性比に及ぼす影響の検討、第 55 回日本腎臓学会学術総会、平成 24 年 6 月 3 日、神奈川県横浜市

小林政司、微小変化型ネフローゼ症候群における再発予測因子としての血清アルブミンの推移の検討、第 56 回日本腎臓学会学術総会、平成 25 年 5 月 11 日、東京都千代田区

小林政司、微小変化型ネフローゼ症候群における再発予測因子の検討、第 57 回日本腎臓学会学術総会、平成 26 年 7 月 5 日、神奈川県横浜市

〔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 :

出願年月日 :

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

小林 政司 (KOBAYASHI, Seiji)

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号 : 80408400

(2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

(3) 連携研究者

( )

研究者番号 :