

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461962

研究課題名(和文) 移植腎Klothoの腎移植後ミネラル代謝における役割と腎・生命予後への影響

研究課題名(英文) Influence of Klotho produced from transplanted kidneys on mineral metabolism and graft/patient survival in kidney transplant patients

研究代表者

中村 道郎 (NAKAMURA, Michio)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：00246547

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：全体的構想は、腎移植でもたらされたKlothoが、腎移植患者でどのように機能し、ミネラル代謝や腎・生命予後に影響を与えているかの解明である。

腎移植患者と生体腎ドナーから血中の可溶性Klothoを定期的に測定した。可溶性Klotho値は、術前値から軽度低下した後3ヶ月から6ヶ月の時点で回復する傾向が認められた。一方、生体ドナーでは術後低下し、術前値まで回復したのは少数例であった。慢性腎不全である腎移植患者のKlotho値は低値で、移植腎によって可溶性Klothoは回復する可能性が示唆されたが、症例ごとにより相違が認められた。今後Klotho産生臓器である副甲状腺との関連性に注目している。

研究成果の概要(英文)：This study was designed to elucidate how Klotho, which is produced by the kidney graft, functions in kidney transplant patients and its influence on mineral metabolism and graft/patient survival. We measured serum soluble Klotho levels pre- and postoperatively from kidney transplant recipients and their donors. In kidney transplant recipients, we found that soluble Klotho levels decreased postoperatively from the preoperative level and a tendency to recover at three to six months was observed. In living donors, the soluble Klotho level decreased after an operation, and only in a small number of cases did the level return to the preoperative value. It was suggested that the soluble Klotho level improved through a successful kidney graft, but considerable differences were found among cases.

We are proceeding with the study on the parathyroid gland, which also produces Klotho, to characterize the pathological difference between pre- and postoperative kidney transplant patients.

研究分野：腎移植

キーワード：Klotho 腎移植 ミネラル代謝

1. 研究開始当初の背景

研究の全体的構想は、腎移植でもたらされた移植腎 Klotho が、移植患者でどのように機能し、ミネラル代謝や腎・生命予後に影響を与えているかを解明することである。近年腎移植の短期的成績は安定してきたが、移植腎廃絶原因の中で、生着中死亡の占める割合は、29.2%と最も高く、その死因では心血管疾患や悪性新生物が感染症に続いて多い。長期成績の向上には患者の生命予後の改善が必須である。一方、腎臓に多く発現している Klotho 遺伝子は、FGF23 とともにミネラル代謝に深く関与しているが、血管石灰化や動脈硬化、癌転移抑制にも影響し、老化抑制因子として注目されている。慢性腎不全患者ではこれが減少しており、生命予後短縮の一因と考えられている。移植腎 Klotho の腎移植患者におけるミネラル代謝への影響についての報告はなく、またこの老化抑制因子がもたらす長期的腎生着率や生命予後への影響も明らかにしたい。

2. 研究の目的

慢性腎不全の状態では Klotho の産生が減少している腎移植レシピエントに、腎移植が施されることで、Klotho のレベルが術後どのように変化し、ミネラル代謝やひいては移植腎予後・生命予後に影響を与えるか、包括的に明らかにすることを目的とする。

また、Klotho のもう一つの産生臓器である副甲状腺について、慢性腎不全患者におこる腎原性副甲状腺機能亢進症では腎移植前後において、副甲状腺機能に著しい変化がおこる。したがって Klotho の産生においても移植前後で変化が起きている可能性がある。その変化や病態を明らかにする目的で、研究期間の途中から、腎移植前後の副甲状腺機能の変化についての研究を平行して開始している。

以下が具体的なレサーチクエッションである。

- 1) 移植腎からもたらされる Klotho が FGF23 などの関連因子とともに、腎移植後のミネラル代謝や移植腎機能にどのような影響、効果を与えているか。
- 2) 中長期的な移植腎機能に及ぼす Klotho の影響
- 3) 生命予後の観点からみた Klotho の影響と意義
- 4) 生体腎ドナーにおける Klotho とドナー腎機能の推移
- 5) もう一つの Klotho 産生臓器である副甲状腺における腎移植前後での組織化学的变化。

3. 研究の方法

1) 新規腎移植患者の前向き観察研究

(対象 方法)

- ・ 当院で新規に腎移植をうけた患者および腎提供を行った生体腎ドナー
- ・ 腎移植前後に定期的に血液を採取する。

(検討項目)

- ・ 患者背景：年齢、性別、原疾患、透析歴、免疫抑制剤内容
- ・ 検査項目：一般血液生化学検査、副甲状腺ホルモン、骨代謝マーカー、FGF23、可溶性 Klotho
- ・ 腎生検：Klotho 染色
- (患者アウトカムの調査内容)
- ・ 死亡(死亡日、死因) ・ 心血管系合併症(発症日、内容) ・ 発癌 or 癌転移 ・ 骨折調査(発症、部位) ・ 副甲状腺手術 ・ 透析への移行(理由、実施日)

(評価項目)

- ・ 手術前後の可溶性 Klotho の推移と術後ミネラル関連パラメータとの関連性
- ・ 移植時の Klotho と中期的患者アウトカム、移植腎機能変化率との関連性の評価。

2) 腎移植前後の副甲状腺の組織学的変化の検討 (腎原性副甲状腺機能亢進症の患者における)

(対象と方法)

腎移植後に遷延性副甲状腺機能亢進症で手術を行った患者 11 名の副甲状腺組織 44 腺について、病理学的に検討した。腎移植前に摘出した組織と以下の項目について比較検討する。

- ・ 組織型
 - 過形成を呈した副甲状腺(結節性、びまん性)
 - 腺重量
- ・ 組織型と腺重量についての関係を透析患者の副甲状腺と比較検討する。
- ・ 特殊染色として下記について、免疫組織化学的に検討する。
 - Klotho 染色
 - FGFR 染色

4. 研究成果

1) 生体腎移植における血中可溶性 Klotho の推移

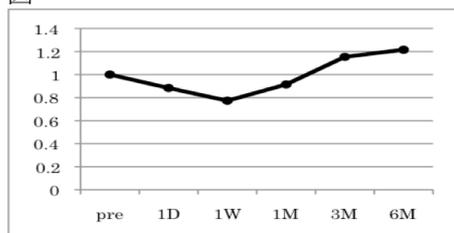
腎移植患者と生体腎ドナーの血清を術前、術後定期的に採取し、可溶性 Klotho 値を測定した。

20 例 (M/F:8/12) の患者背景は、年齢 52.2 ± 9.7 歳、透析歴 50.0 ± 20.3 ヶ月であった。

可溶性 Klotho 値は、術前値から低下し、3 ヶ月から 6 ヶ月の時点で回復する傾向が認められた。6 ヶ月の時点で術前値より高値となったのは 20 例中 15 例であったが、術前値との間には有意差は認められなかった。一方、生体ドナーの可溶性 Klotho 値は術後低下し、術前値まで回復したのは 20 例中 2 例であった。

可溶性 Klotho 値の経時的推移の傾向は各症例で認められてはいるが、その値にはかなりばらつきが多いことが問題であった。そこで、術前の可溶性 Klotho 値を 1.0 とした時の変化率を各時期に求め、グラフに表した。(図)

図



この結果から慢性腎不全状態にある腎移植患者の移植前の Klotho 値は低値で、機能の改善した移植腎によって可溶性 Klotho も回復する可能性が示唆されたが、症例ごとにより相違が認められた。

腎移植後、このような推移を辿る可溶性 Klotho であるが、現在から今後にかけて次のような課題について研究・検討を深めていく予定である。

(今後の課題)

- 検討項目として挙げている腎移植前後における FGF23 の測定を進めているが、可溶性 Klotho の関連性について検討する。
- 腎移植後の可溶性 Klotho 値は、移植腎機能によって変動するため、腎機能の推移との関連性を明らかにする。
- 腎移植後に減少あるいは増加する可能性 Klotho が、移植腎からもたらされるかについては未だ明らかでない。そこで移植腎生検における Klotho 染色をおこなない、その発現度と Klotho 値との関係を検討する。
- 移植腎生検組織の組織像と Klotho の発現度、移植腎機能との関係を比較検討す

る。

- これらの研究の最終的なアウトカムは腎移植患者の腎予後・生命予後にある。Klotho 値の高低が移植腎機能、ひいては生命予後とどのような関連性があるのかについて、継続的な研究が必要である。

2) 腎移植前後の副甲状腺の組織学的変化の検討

腎移植後に遷延する腎原性副甲状腺機能亢進症に対して、副甲状腺摘出術を受けた症例の副甲状腺組織について研究・検討を加えた。腎移植後に摘出された副甲状腺は、遷延する副甲状腺機能亢進症にも関わらず、腎移植前に摘出された副甲状腺よりも腺重量が全体的に軽量であった。一方、その組織型を観察すると、過形成の形式が結節性過形成を呈している腺が多く、腺重量との乖離が明らかになった。(発表論文参照)

以上より、腎移植後に遷延する副甲状腺機能亢進症は、比較的軽量にも関わらず、結節性過形成を呈している腺の存在が原因である可能性が示唆された。

(今後の課題)

- 腎移植後に摘出した副甲状腺組織において、過形成の程度を示す、各種レセプター (カルシウム感知レセプター、ビタミン D レセプター、FGF レセプター-1 など) の染色とその評価を行う。
- 副甲状腺組織における Klotho の発現レベルを免疫組織化学的に評価する。
- これらの組織学的評価には、発現度の半定量化が必要と考えられるが、その方法については課題が多く、現在研究を進めている。

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 1 件)

- 1) Nakamura M, Ishida H, et al:
Pathological features of parathyroid glands associated with the pathogenesis of long-lasting persistent hyperparathyroidism after kidney transplantation in long-term dialysis patients.
Transpl Proc 2016 (in press).

[学会発表] (計 2 件)

- 1) Nakamura M, Ishida H, Takiguchi S, et al:
Histopathological analysis of the parathyroid glands in patients with tertiary renal hyperparathyroidism after kidney transplantation.
European Society for Organ Transplantation 2015 (Brussels).
- 2) Nakamura M, Ishida H, Takiguchi S, et al:
Pathological features of parathyroid glands associated with the pathogenesis of persistent hyperparathyroidism after kidney transplantation.
14th Congress of the Asian Society of Transplantation (Singapore).

[図書] (計 0 件)

[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:

無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 道郎 (NAKAMURA, Michio)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：00246547

(2) 研究分担者

深川 雅史 (FUKAGAWA, Masafumi)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：00211516

角田 隆俊 (KAKUTA, Takatoshi)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：50276854

白井 博之 (SHIRAI, Hiroyuki)

東海大学・医学部・助教

研究者番号：90346338

(平成 25 年度のみ)