

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

渡 邊 詩 香

専攻分野：内科学

コース：腎臓・高血圧内科

指導教授：柴垣 有吾

主論文の題目：

Urinary Level of Liver-Type Fatty Acid Binding Protein Reflects the Degree of Tubulointerstitial Damage in Polycystic Kidney Disease
(多発性嚢胞腎において尿中肝臓型脂肪酸結合蛋白は尿細管間質障害の程度を反映する)

共著者：

Daisuke Ichikawa, Takeshi Sugaya, Keiichi Ohata, Kazuho Inoue,
Seiko Hoshino, Kenjiro Kimura, Yugo Shibagaki,
Atsuko Kamijo-Ikemori

緒言

多発性嚢胞腎 (Polycystic Kidney Disease : PKD) は、遺伝性腎疾患の中で、最も高頻度にみられる進行性腎疾患である。CT 検査、MRI 検査などの画像検査による腎体積 (Total Kidney Volume : TKV) 測定が、PKD の診断、重症度評価に使用されているが、放射性被ばく、高い検査費用、再現性、施行できる施設がかぎられているなどの問題があり、より簡便で安価に PKD 進行をモニタリングできるマーカーが必要である。

最近、PKD の進行が、間質の炎症や線維化の程度と強く相関することが報告されている。そのため、尿細管間質障

害を反映するマーカーは、PKD の進行をモニタリングできる可能性がある。

尿中肝臓型脂肪酸結合蛋白 (Liver-Type Fatty Acid Binding Protein: L-FABP) は、慢性腎臓病および急性腎障害における尿細管障害マーカーとして保険収載されているが、PKD においての有用性は、十分に検討されていない。本研究では、尿中 L-FABP が、PKD における尿細管間質障害の程度を反映し、PKD の進行をモニタリングする有用なマーカーであることを、基礎的研究により明らかにする。

方法・対象

PKD モデルとして PCK/Cr1jCr1-Pkhd1^{pck}/Cr1 オスラット (PCK ラット、n=34) を用いた。このラットは polycystic kidney and hepatic disease 1 (P k h d 1) 遺伝子突然変異が同定されている自然発症突然変異ラットであり、腎病変はヒトの常染色体優性および常染色体劣性 PKD の特徴を有す。対照群として Sprague-Dawley オスラット (SD ラット、n=34) を用いた。

生後 8 週、12 週、16 週、20 週、24 週でそれぞれ尿を採取し、尿中 L-FABP、尿中アルブミンの測定を行った。また生後 8 週、16 週、20 週、24 週で血液と腎臓の採取を行った。血清を使用し、血清クレアチニン、血清 L-FABP の測定を行った。ホルマリンおよびカルノア固定された腎組織を使用し、Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)、ED-1、 α smooth muscle Actin (α SMA)、type I コラーゲンへの抗体を使用した免疫組織化学染色 (免疫染色) を行い、100 倍率で 10 視野中の陽性面積/総面積比を測定し、皮質から髓質外層領域における尿細管上皮細胞の増殖、間質の

炎症、間質の線維化を評価した。腎臓摘出時に TKV の測定を行った。TKV は実臨床で用いられている計算に倣い、腎の長径×横径×高さ× $\pi/6$ の式を用いて算出した両側の腎体積の合計 (TKV) とした。

なお本研究は、聖マリアンナ医科大学動物実験規定と the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals 8th Edition に基づいて行い、聖マリアンナ医科大学大学院実験動物飼育管理研究施設動物実験委員会（承認第 1610006 号、1710004 号、1806005 号）の承認を得たものである。統計手法としては、Mann-Whitney U 検定または Spearman の順位相関係数を使用した (JMP13.0)。

結果

血清クレアチニン値は、PCK ラットと SD ラットで同程度であったが、全ての PCK ラットにおいて腎嚢胞形成が観察された。また、SD ラットと比較し PCK ラットでは、尿細管上皮細胞の増殖、間質の炎症の程度は、週齢が進むにつれ強く認められた。PCK ラットにおける間質線維化は、生後 8 週から 20 週の間進行する傾向にあり、生後 20 週でピークを示した。

PCK ラットにおける尿中 L-FABP 値は、週齢とともに上昇し、生後 12 週、16 週、20 週、24 週で、同週齢の SD ラットの値より有意に高値を示した (全て $p < 0.05$)。また PCK ラットの尿中 L-FABP 値は、尿細管上皮細胞の増殖を示す PCNA、間質の炎症を示す ED-1、間質線維化を示す α SMA、type I コラーゲンの発現 (免疫染色陽性面積比) と有意に相関した ($R_s = 0.67$, $p = 0.0003$; $R_s = 0.74$, $p < 0.0001$; $R_s = 0.77$, $p < 0.0001$; $R_s = 0.76$, $p < 0.0001$)。さらに生後 16

週の尿中 L-FABP 値と生後 20 週の TKV に有意な相関が見られた ($R_s=0.709$, $p=0.015$)。血清 L-FABP 値については、PCK ラットと SD ラットの間で有意差を認めなかった。

PCK ラットの尿中アルブミン値も週齢に伴い上昇傾向を示し、生後 8 週、12 週、16 週、20 週、24 週で同週齢の SD ラットよりも有意に高値を示し (全て $p<0.05$)、また PCNA、ED-1、 α SMA、type I コラーゲンの発現 (免疫染色陽性面積比) と有意に相関を示した ($R_s=0.75$, $p<0.0001$; $R_s=0.72$, $p<0.0001$; $R_s=0.86$, $p<0.0001$; $R_s=0.77$, $p<0.0001$)。しかし、尿中アルブミン値が、その後の TKV と相関することはなかった。

考察

本研究において PCK ラットの尿中 L-FABP 値と尿中アルブミン値は、週齢とともに上昇し、それらの値は、尿細管上皮細胞の増殖、間質の炎症、間質線維化の程度と有意に相関した。さらに、生後 16 週の尿中 L-FABP 値と生後 20 週の TKV が有意な相関を示したことから、尿中 L-FABP は PKD の進行予測に有用なマーカーになりうる可能性が示された。これまで私たちは、尿中 L-FABP が、慢性腎臓病 (糖尿病性腎症を含む) や急性腎障害の早期診断や腎予後予測に有用であることを報告してきた。また、尿中 L-FABP が、健常者と比較し、常染色体優性 PKD の患者で有意に高値を示したことが報告されている。しかし、PKD における尿細管間質病変と尿中 L-FABP の関係、PKD 進行に伴う尿中 L-FABP の有用性を検討した報告はない。本研究は、尿中 L-FABP が PKD 進行の有用なモニタリングマーカーである可能性を示す初めての報告である。

結論

尿中 L-FABP は、すでにその有用性が報告されている尿中アルブミンと同様に、PKD における尿細管間質障害の程度を反映した。さらに、尿中 L-FABP は、尿中アルブミンと異なり、PKD 進行の予測に有用である可能性が示された。今後、臨床研究により、尿中 L-FABP の有用性を確認する。