

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	医学研究科小児科学講座 氏名 敦賀 和志
<p>(論文題目)</p> <p style="text-align: center;">Expressions of mRNA for innate immunity-associated functional molecules in urinary sediment in immunoglobulin A nephropathy. (IgA 腎症患者の尿沈渣細胞における自然免疫関連機能分子の mRNA 発現)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>【緒言】</p> <p>慢性腎疾患(CKD)は、心血管疾患とも密接に関連し国民の健康に重大な影響を及ぼしているとされることから、その発症、進行の予防は喫緊の課題となっている。CKD の代表的疾患である IgA 腎症は、本邦の成人、小児で頻度の高い慢性糸球体腎炎である。IgA 腎症の病因は不明であるが、臨床的に上気道炎や腸管感染症がその発症や急性増悪の契機となることが知られており、その病態への自然免疫系の関与が示唆されている。これまでわれわれは、培養ヒトメサンギウム細胞を用いた基礎実験から、Toll-like receptor 3 (TLR3)を機転とし、interferon (IFN)-β、retinoic acid inducible-gene I (RIG-I)、chemokine ligand 5 (CCL5)、IFN-inducible protein 10 (IP-10)、fractalkine (Fkn)、monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1)などの炎症関連分子群が誘導されることを報告してきた (NDT 2010, Nephron Exp Nephrol 2011, Tohoku J Exp Med 2012, Pediatr Res 2013, Am J Nephrol 2013, Nephrology 2013, 2014 etc.)。</p> <p>これまでの臨床研究では、IgA 腎症と IgA 血管炎関連腎症である紫斑病性腎炎の小児の尿沈渣において、ナイーブヘルパー T 細胞から Th1/Th2 へと分化を開始する転写因子である T-bet と GATA-3 の mRNA 発現について検討し、コントロール群に比べ腎炎群では T-bet の発現が有意であり、腎生検組織を用いた免疫染色での有意な染色性を確認し報告した (Pediatr Nephrol 2008, 2011, Acta Paediatr 2010)。</p> <p>一般に腎疾患の病態、病勢の評価には腎生検による組織診断が必須であるが、時に重篤な合併症も起こり得る侵襲的な検査である。このため、特に小児科領域では CKD の腎組織病態を非侵襲的に評価可能な検査法の開発が強く望まれている。以上のような背景をもとに、小児 IgA 腎症の疾患活動性を非侵襲的に評価する試みとして、患者尿沈渣中の細胞を用いて、自然免疫系を介し発現する炎症関連機能分子群の mRNA 発現を測定し、臨床パラメーターや腎組織所見との関連を検討した。</p> <p>【対象と方法】</p> <p>対象：学校検尿で異常を指摘され腎生検で診断された新規発症の IgA 腎症 20 例(中央値 8.5 歳, M:F=10:10)。非炎症性腎炎を対照として 4 例(中央値 14.0 歳, M:F=3:1)の菲薄基底膜病を用いた。対象者全員、血圧は正常で腎機能も正常範囲内であった。尿蛋白クレアチニン比は、IgA 腎症群では平均 1.9、コントロール群では 0.1 であった。腎生検は、尿所見の異常を指摘されてから 3 か月以内に施行された。IgA 腎症群では、腎生検組織を Andreoli と Bergstein の組織スコアを用いて急性化病変(A.I)、慢性化病変(C.I)を半定量的に評価した。得られた A.I は平均 3.4、C.I は 3.1 であった。</p> <p>方法：尿沈渣細胞は、早朝尿 50ml を 30 分遠心し尿沈渣を回収。RNeasy Mini Kit (Qiagen, MD, USA)を用いて total RNA を抽出後、cDNA を作製し測定までは-80℃で凍結保存した。リアルタイム PCR 法により、これまでのわれわれの基礎実験から自然免疫系を介し発現が確認されている炎症関連分子群である CCL5, Fkn, IP-10, MCP-1,</p>	

RIG-I, TLR3 の mRNA 発現を測定した。また、尿検体採取と同時期に行われた腎生検で得られた組織を上記分子群の抗体で蛍光抗体法により染色し、尿沈渣 mRNA の発現と比較した。

【結果】

IgA 腎症群は非炎症性腎疾患群に比して CCL5 (P=0.008), Fkn (P=0.013), RIG-I (0.013) の mRNA 発現は有意に高値であった。IP-10 と TLR3 では腎炎群とコントロール群との発現の差は見られなかった。MCP-1 は、腎炎群でやや発現が高い傾向(P=0.053)があった。一方、今回の検討ではこれらの分子群の発現と血清タンパクやアルブミン値などの血液検査結果、潜血やタンパク量などの尿検査所見、血圧等の臨床症状との有意な相関は認められなかった。腎組織スコアとの関連をみると、Fkn の尿沈渣発現は腎組織の A.I (P=0.022)・C.I (P=0.005)との有意な相関が確認された。さらに、腎組織で炎症所見が強い検体ほどメサンギウム領域での Fkn の染色性が強い傾向が確認された。

【まとめ】

尿検体は血液検体に比べ、より直接的に糸球体病変を反映し、かつ非侵襲的な方法で繰り返し得られる検体である。尿沈渣からの遺伝子発現は不安定ではあるが、尿中蛋白成分に比べて腎糸球体局所から直接尿中へ漏出していることが想定されている。今回の検討から、IgA 腎症群の尿沈渣細胞中で有意な発現を示す機能分子の候補として、CCL5, Fkn, MCP-1, RIG-I が挙げられた。これらの分子群は、われわれのこれまでの検討から腎生検組織においても有意な染色性が確認されている。Fkn は、単球、好中球の遊走化・活性化を誘導するケモカインで、ループス腎炎では腎組織での発現と炎症病態は関連することが報告されている。今回の検討から、IgA 腎症群における腎組織病変スコアと Fkn の尿沈渣細胞での発現が有意に関連する可能性が示された。

一方、本研究の限界として、尿沈渣で得られる細胞は糸球体傷害によって脱落した細胞と予想されるが、尿沈渣の構成細胞の詳細な分析や mRNA のもととなった細胞の同定がなされていないことが挙げられる。今後、症例数の集積、検討する分子群の絞り込み、尿沈渣細胞成分の詳細な検討を行う必要がある。

【結論】小児 IgA 腎症において、Fkn に代表される自然免疫系を介する炎症関連分子群 mRNA 発現の測定は、将来的に腎組織学的病態を非侵襲的に評価する検査法として有用となる可能性がある。