

【 1 】

氏 名	あべ まこと 阿 部 誠
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第832号
学位授与の日付	令和4年10月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (内科学（腎臓・高血圧）)
学位論文題目	Urinary podocyte excretion predicts urinary protein selectivity and the renal prognosis (尿中ポドサイト脱落による尿中タンパク質選択性と腎予後の予測)
論文審査委員	(主査) 教授 倉 沢 和 宏 (副査) 教授 矢 澤 卓 也 教授 小 飼 貴 彦

論 文 内 容 の 要 旨

【背 景】

尿中ポドサイト脱落は糸球体ポドサイト数の減少、糸球体硬化症、および尿中蛋白質選択性に関連している。

【目 的】

蛋白尿におけるポドサイトの役割を解明するために、120人の腎生検患者における尿中ポドサイトと尿中蛋白質分画の相関関係を調べた。また、糸球体からのポドサイトの脱落を引き起こす要因を調査し、腎予後における尿中ポドサイトの役割を評価した。

【対象と方法】

この研究は、獨協医科大学の臨床研究審査委員会（No. R-2-1）によってレビューおよび承認され、ヘルシンキ宣言および獨協医科大学臨床研究ガイドラインに従って実施した。2017年9月から2019年12月に当科で腎生検を行なった120人の患者を対象とした。10倍率視野で蛍光標識抗ポドカレキシン抗体で染色された尿沈澱物からポドサイトを同定した。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離した蛋白質バンドを画像ソフトウェアプログラムを使用して計算し、尿中ポドサイトとの相関を分析した。低真空走査型電子顕微鏡を使用し、ポドサイトの表面細孔を観察した。血液透析の誘発およびeGFRの30%以上の減少または腎予後および生命予後をエンドポイントとした。

【結 果】

尿中ポドサイトは、尿中IgG、プレアルブミン、トランスフェリンと比較して、尿中アルブミン排

泄とより高い正の相関を示した。尿中ポドサイトと β -ミクログロブリンおよび α 1-ミクログロブリンを含む低分子量蛋白質との間に有意な相関関係はなかった。ポドサイトの表面孔の数は尿蛋白量と正の相関があり、アルブミンのトランスサイトーシスを示唆している。脈圧と脈拍の積である水撃圧を含む糸球体毛細血管壁の血行力学的圧力は、尿中ポドサイト脱落と正の相関があった。尿中ポドサイト排泄およびタムホスファール蛋白質は、腎予後および生命予後の独立した危険因子だったが、治療反応性とは関連しなかった。

【考 察】

尿中ポドサイト脱落は尿中蛋白質分画の中でアルブミンと最もよく相関し、尿中蛋白質の選択性に影響を与えることが示唆された。一方、高分子量蛋白質（IgGおよびタムホスファール蛋白質）との相関は弱く、ポドサイトの喪失が尿蛋白質の選択性を低下させることを示唆している。ライトチェーン、 α 1-ミクログロブリンそして β 2-ミクログロブリンなどの低分子量蛋白質との有意な相関関係は示されなかった。

選択的アルブミン尿は、基底膜電荷障壁の障害またはスリット膜サイズ障壁の異常によりアルブミンを選択的に濾過すると考えられてきたが、本研究でポドサイトの頂端膜のトランスサイトーシスによる小さな穴の数が、尿中蛋白質排泄と有意な相関関係を示しており、ポドサイトによるアルブミントランスサイトーシスが示唆された。

巣状糸球体硬化症の動物モデルでは、血行力学的要因が尿中ポドサイト脱落に関与しているとされ、本研究でも水撃圧と体重の積は尿中ポドサイト脱落と密接に関連していた。臨床ではアンジオテンシン変換酵素阻害薬 / アンジオテンシンII受容体拮抗薬は糸球体内圧と尿中蛋白質を低下させることで糸球体損傷を防ぐ目的でよく使用され、体重コントロールに加えて、アンジオテンシン変換酵素阻害薬 / アンジオテンシンII受容体拮抗薬による糸球体内圧の低下と、 β 遮断薬による脈拍数の調節が、水撃圧の低下、ポドサイト脱落の防止、および巣状糸球体硬化の抑制に役立つ可能性がある。本研究の治療薬の割合は臨床的および組織学的状態によって選択されており、治療後の尿中ポドサイト測定はないため治療効果は検討できておらず、さらなる研究が必要である。

IgA腎症では、尿中ポドサイト脱落が増加すると糸球体ポドサイトの数が減少し、腎組織の損傷と相関していることが報告されており、腎予後と関連する可能性がある。しかし、腎生検患者の尿中ポドサイトは急性期に増加し、慢性期に減少する二相性の変化を示すことがわかっている。本研究では、腎予後をエンドポイントとした尿中ポドサイト脱落はハザード比0.29 ($p<0.01$) であり、尿中ポドサイト脱落が少ない患者の方が良好な腎予後を示した。これはポドサイト脱落が少ない症例の中には初期段階の症例と、そもそも糸球体に残っているポドサイトが少ない進行した糸球体疾患の両方が含まれることが要因である。さらに、尿中ポドサイト脱落が増加した活動的な症例は治療効果が大きく、良好な腎予後を示した。腎予後における尿中ポドサイトの影響は、さらに長期間の観察が必要であるが、ヘンレの係蹄の太い上行脚から分泌されるタムホスファール蛋白質は、ハザード比36.66 ($p<0.01$) と腎予後の重大な悪化要因であり、タムホスファール蛋白質が腎炎およびネフローゼ症候群の治療の重要な標的であることが示唆され、重曹による尿のアルカリ化が硝子体の形成を抑制するこ

とてCKD患者の腎機能を改善することの裏付けになる可能性があり、さらなる研究が必要である。

水撃圧と腎動脈RIの両方は、治療で完全寛解を達成した患者で有意に低かった。ステロイド治療はRI0.65~0.70の場合に効果的であることが示されており、この研究では完全寛解群のRIは 0.64 ± 0.01 であり、以前の結果と一致しており、より低い水撃圧が治療への反応に重要であることが示唆された。残念ながら、尿中ポドサイト数は治療反応性には影響を与えなかったが、これは活動性腎炎が尿中ポドサイト数を増加させるが、軽度の初期および進行した慢性症例の尿中ポドサイト数は減少するためであると考えられた。

【結 論】

尿中ポドサイト脱落は尿中アルブミンと有意に相関しており、ポドサイトによる特定のアルブミン輸送を示している。水撃圧と体重の積は、糸球体からポドサイトを引き離す力であり、腎臓と生命の生存に関係している。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【論文概要】

尿中ポドサイト排泄は糸球体ポドサイト数の減少、糸球体硬化症、および尿中蛋白質選択性に関連している。蛋白尿におけるポドサイトの役割を解明するために、120人の腎生検患者における尿中ポドサイトと尿中蛋白質画分の相関関係を調べた。また、糸球体からのポドサイトの脱落を引き起こす要因を調査し、腎予後における尿中ポドサイトの役割を評価した。

対物レンズ10倍率視野において、蛍光標識抗ポドカレキシン抗体で染色された尿沈澱物からポドサイトを同定した。Sodium dodecyl sulfate-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離し、クマシーブリリアントブルー染色により得られた蛋白質バンドの濃度を画像ソフトウェアプログラムにより計算し、尿中ポドサイト脱落数との相関を分析した。低真空走査型電子顕微鏡 (Low vacuum scanning electron microscopy: LVSEM) を使用し、ポドサイトの表面細孔を観察した。血液透析の導入あるいはeGFRの30%以上の減少を腎予後不良とした。

尿中ポドサイト脱落数は、尿中IgG、プレアルブミン、トランスフェリンと比較して、尿中アルブミン排泄とより高い正の相関を示した。尿中ポドサイト脱落数と $\beta 2$ -ミクログロブリンおよび $\alpha 1$ -ミクログロブリンを含む低分子量蛋白質との間に有意な相関関係はなかった。ポドサイトの表面細孔の数は尿蛋白量と正の相関があり、アルブミンのトランスサイトosisを示唆していた。脈圧と脈拍の積である水撃圧を含む糸球体毛細血管壁の血行力学的圧力は、尿中ポドサイト排泄と正の相関があった。尿中タムホスファール蛋白質および腎動脈 (Resistive index: RI) は、腎予後および生命予後の独立した危険因子だったが、治療反応性とは関連しなかった。

尿中ポドサイト排泄は尿中アルブミンと有意に相関しており、ポドサイトによる特定のアルブミン輸送を示している。水撃圧と体重の積は、糸球体からポドサイトを引き離す力であり、腎臓と生命の生存に関係している。

【研究方法の妥当性】

申請論文は、獨協医科大学臨床研究審査委員会より倫理番号R-2-1を取得している。得られたデータは客観的に統計解析されており、その方法も適切であり、本研究の方法は妥当なものである。

【研究結果の新奇性・独創性】

ラットにおいてポドサイト表面細孔がアルブミン輸送を示していることは既知の論文において示されていた。申請論文では、ヒト検体においても同様にポドサイト表面細孔がアルブミン輸送を示唆していることを示した。また、糸球体ポドサイトの脱落因子として糸球体過剰濾過・糸球体高血圧・糸球体肥大に加え、新たに水撃圧を挙げている。尿中ポドサイト脱落数は腎予後についての有意なリスク因子とはならなかったが、これは残存腎機能および病勢に影響されるためと考えられる。その一方で、タムホスファール蛋白と腎動脈RIが新たな腎予後のリスク因子として示されている。

【結論の妥当性】

申請論文の結論は、過去の研究においてポドサイトが選択的アルブミン輸送を担っており、ポドサイト脱落の物理的因子として水撃圧が腎予後の増悪因子とするメカニズムにも矛盾がなく、妥当なものである。

【当該分野における位置付け】

申請論文では、腎生検当日の尿中ポドサイト脱落数とその後の臨床経過、および腎生検検体のLVSEM所見から、ポドサイトの尿蛋白との関係性、腎生検後の腎予後および治療反応性との関係について検討がなされている。現在、糸球体疾患の診断には腎生検が必要であるが、本論文では非侵襲的にノンリスクで採取できる尿検体からアプローチをすることで、腎生検を行わずに、あるいは腎生検を行うことのできない症例において、治療方針を決められる可能性を示した。また、経時的な尿中ポドサイトの研究を進めることで、腎疾患治療の新たな検査項目としても期待される。

【申請者の研究能力】

申請者は腎臓病学に関し幅広い知識を有しており、ポドサイト研究により腎生検に変わる新たな疾患活動性や腎予後の指標となる可能性がある、低侵襲な検査として期待される研究に着手している。データの収集方法やその統計学的解析・評価も適切であり、そこから得られる情報に関して適切な考察を行い、意義のある結論を出している。よって、申請者の研究能力は高いと評価できる。

【学位授与の可否】

本論文は、ヒト検体における尿中ポドサイトを測定することで尿蛋白選択性について既存の研究を支持し、LVSEMを含めた研究内容と、新たな腎予後のリスク因子、ポドサイト脱落因子について検討した独創的かつ優れた研究内容であり、今後の腎疾患の検査として有用かつ該当分野における貢献度も高い。よって、博士（医学）の学位授与に相応しいと判断した。

（主論文公表誌）

International Journal of Nephrology

(2022 : 2702651, 2022)