

急速進行性糸球体腎炎の診断と腎予後予測を可能とする尿検査法の開発 ～白血球由来の尿中遊離タンパクによる検査法～

名古屋大学大学院医学系研究科腎臓内科学の横江 優貴 元大学院生、丸山 彰一 教授、藤田医科大学腎臓内科学の坪井 直毅 教授らの研究チームは、好中球細胞質抗体(ANCA)^{*1} 関連腎炎で、炎症を司る白血球の表面分子が尿中で増加し、治療後の腎予後と関係することを、国内多施設の ANCA 関連腎炎患者検体を用いて証明しました。

ANCA 関連腎炎は、急速に腎機能が低下することで知られる難病ですが、糸球体に白血球が集まり半月体と呼ばれる炎症所見を示すことが特徴です。そのため、腎生検による組織診断が病勢の評価に有用ですが、検査後の出血のため入院が必要であり、採血や尿検査のように何度も行うことはできない検査です。

研究チームは、糸球体腎炎では炎症を引き起こす白血球由来の分子が尿中に漏れることをこれまでの研究で明らかにしてきました。今回、名古屋大学医学部附属病院およびその関連病院(88 例)、藤田医科大学など大学病院を含む基幹病院(138 例)で収集された ANCA 関連腎炎患者生体試料での検討により、血管への接着に必要な分子である CD11b と異物除去に必要な分子である CD163 のそれぞれをもつ白血球が、糸球体内の、特に治療反応性が期待できる新鮮な半月体で増加し、かつ CD11b と CD163 が尿中でも増加することを見出しました。さらに両分子の値と腎臓の予後との関連を検討した結果、診断時尿中 CD163 値は、6 ヶ月後の治療で寛解に至らなかった、あるいは腎機能重症度が高い患者で増加しており、一方診断時尿中 CD11b 値は発症後 2 年までの腎機能の平均改善度を予測する因子であることが明らかとなりました。

ANCA 関連腎炎患者では腎予後悪化を予測するバイオマーカーの報告はありますが、本研究では糸球体への白血球の集積を反映し、かつ治療への反応性(CD163)や腎機能改善(CD11b)に関連する指標が同定されました。したがって、患者尿中の CD11b や CD163 の測定は、患者負担の大きい組織診断に代わり、ANCA 血管炎関連腎炎の診断や、治療開始後の効果判定あるいは再発予測のための検査法として有用と考えられます。

本研究成果は、欧州腎臓学会雑誌『Nephrology Dialysis Transplantation (NDT)』(英国時間 7 月 8 日付けの電子版)に掲載されました。

ポイント

- 抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連腎炎は急速に腎機能低下が進行し、多くが数週から数ヶ月で高率に透析に至る難治性腎疾患群(急速進行性糸球体腎炎)であるが、半月体とよばれる腎糸球体の組織病変は代表的予後不良因子である。そのため診断や治療方針の決定に腎生検が有用であるが、患者負担が大きく、診断や病勢・治療効果判定には組織診断に代わる非侵襲的(負担の小さい)検査法が望まれていた。
- 名古屋大学医学部附属病院とその関連病院(88例)、および藤田医科大学病院など大学病院を含む中核病院(138例)で収集されたANCA関連腎炎患者の尿中では、白血球表面分子であるCD11bとCD163が上昇しており、両者は治療反応性の高い細胞性半月体形成と関連した。また、診断時の尿中CD163値は、6ヶ月間の免疫抑制治療に反応の悪い、あるいは腎機能が低下した患者で上昇していた。一方、診断時の尿中CD11b値は、治療後の腎機能改善度と関連していた。
- 抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連腎炎患者において、尿中CD11bとCD163の両者は糸球体での炎症細胞数を反映するが、その臨床的意義は異なると考えられた。尿中CD11b値とCD163値を組み合わせることで、ANCA関連腎炎患者の腎炎症度判定のみならず、反応性や腎予後を見据えた治療法の選択の指標とすることができるかもしれない。

1. 背景

ANCA関連血管炎(AAV)は他臓器に炎症を引き起こす指定難病ですが、腎臓に障害が起きた場合はANCA関連腎炎と呼ばれ、臨床経過上急速な腎機能低下を示すこと(急速進行性糸球体腎炎)、病理組織上では腎糸球体毛細血管の破綻により半月体と呼ばれる炎症所見(半月体形成性糸球体腎炎)を呈することが特徴です。したがって、診断、疾患の活動性評価、治療選択、予後推定の上で、腎生検による組織診断が必要です。しかしながら、組織採取という侵襲性により当検査には入院を要します。また、多くが高齢者に発症し、かつ血管の炎症を生じるANCA関連腎炎患者では、検査後の出血リスクは高まります。以上のことから、外来通院での状態把握、全身状態の悪い患者や合併症で腎生検が施行できない場合には、腎生検の代替となる検査法が望まれていました。

ANCA関連腎炎の炎症は、腎臓のろ過装置である糸球体に白血球が集まり生じます。中でも、好中球^{*2}、マクロファージ^{*3}といった細胞は急性炎症を担う白血球として知られています。好中球、マクロファージはその細胞表面に、CD11bという白血球と血管との接着に関わる分子を、さらにマクロファージはCD163という異物除去に関わる分子を有します。研究グループは、これまでに糸球体疾患の中で、ANCA関連腎炎を含む糸球体腎炎の活動期にはCD11bやCD163が尿中に漏れることを明らかとしてきましたが、臨床指標としての意義は明らかではありませんでした。そこで研究チームは、診断時の尿中CD11b、CD163値が、糸球体での白血球集積、治療反応性、腎予後を予測するのではないかと仮説をたて、名古屋大学とその関連病院、厚生労働省難治性疾患克服研究事業で集められた多施設のANCA関連腎炎患者検体を用い解析しました。

2. 研究成果

研究グループはまず、名古屋大学医学部附属病院とその関連病院(88例)、および厚生労働省難治性疾患克服研究事業(138例)で組織診断時に収集された合計226例のANCA関連腎炎患者尿検体で、CD11bとCD163値を測定し、糸球体の組織学的分類、尿蛋白、腎機能との関連性を検討しました(図1)。その結果、CD11b、CD163の両分子は、全系球体のうち半月体形成糸球体が50%以上を占め、かつ廃絶した糸球体が50%以下である半月体型と呼ばれるカテゴリーに分類される患者群で有意に増加していました。また両分子はともに、尿蛋白とは正の、腎機能とは負の相関を示しましたが、それらはCD163でより強固でした(図1)。

次に、CD11b陽性、CD163陽性の各白血球分画の糸球体での分布に注目したところ、CD163陽性白血球数は糸球体全領域に均等に観察されたのに対し、CD11b陽性白血球数は半月体内よりも糸球体の未破壊領域に多く分布していました。また尿中の両分子の値は、半月体形成率や、半月体内のCD11b陽性、CD163陽性白血球分画集積数とも、それぞれ有意に相関していました(図2)。

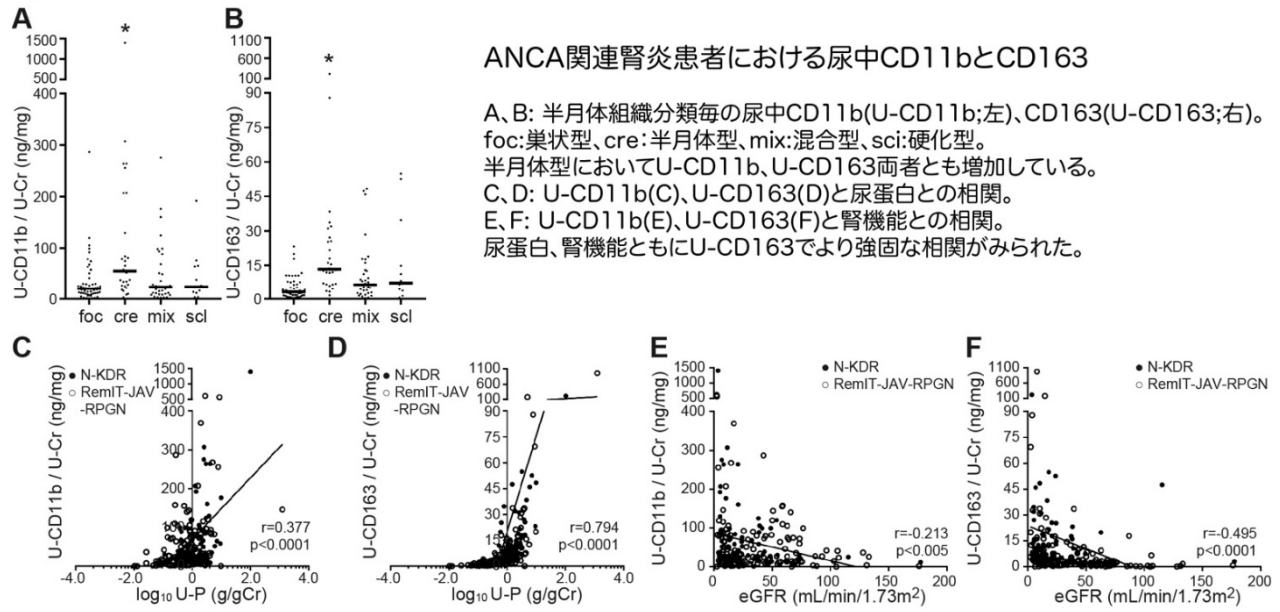
治療後の腎予後に関する検討では、尿中CD163値は、治療6ヶ月後に有意に減少しましたが、未寛解あるいは腎機能障害が重度となった患者群では、診断時にすでに上昇していることが明らかとなりました(図3)。以上の結果は尿中CD11b値ではみられませんでした。診断時における両分子尿中漏出量と2年後までの腎機能低下率との関連を、他の臨床的パラメーターを加えて検討したところ、年齢、腎機能低下、尿蛋白量が最長2年間の腎機能悪化の予期因子であるのに対し、尿中CD11b値は腎機能改善を予見する独立した因子であることが明らかになりました。一方、尿中CD163は腎予後を推定する因子とはなりません(表1)。

3. 今後の展開

本研究結果から、尿中CD11b、CD163の両者は診断時に測定することにより、ANCA関連腎炎の糸球体炎症、特に白血球の集積を反映する診断法として有用性が示唆されました。また尿中CD11bの値から治療後の腎機能改善の予測がたち、治療薬や強度決定の際の補助情報として有用です。ANCA関連腎炎は短期間に重篤な経過をとることの多い疾患であるため、短時間で済み、非侵襲的な尿検査から組織所見を推測できる本検査法は、組織検査が躊躇される高齢者や状態の悪化した患者、出血のリスクが高い患者、あるいは組織診断体制が整っていない発展途上国においても大きな臨床的意義をもちます。

本研究は日本国内患者の生体試料を用いた検討ですが、本邦と欧米ではAAVの表現型に大きな差が見られます。異なった人種間における本診断法の整合性を評価するため、本研究グループは、欧米の研究施設との国際共同研究を計画しています。さらには診療現場での応用を視野に入れ、検査試薬開発を企業に働きかけていきます。非侵襲的な検査法による正確な診断のもと、適切な免疫抑制治療を選択することでANCA-GN患者の予後改善に貢献することを目標としています。

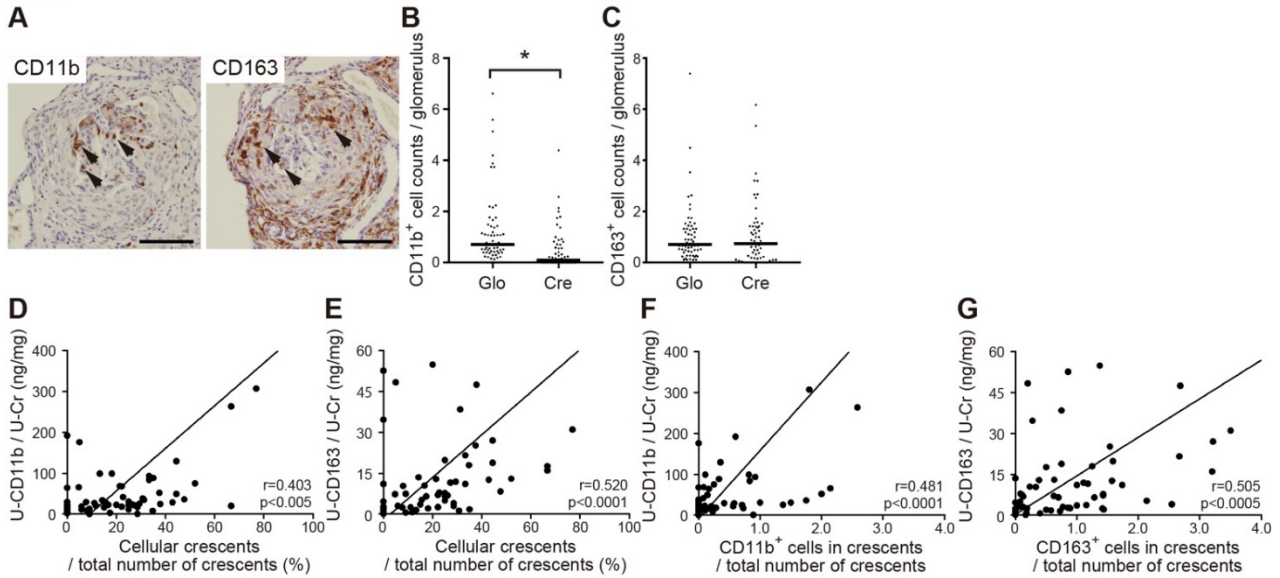
☒ 1



ANCA関連腎炎患者における尿中CD11bとCD163

A, B: 半月体組織分類毎の尿中CD11b(U-CD11b;左)、CD163(U-CD163;右)。foc: 巣状型、cre: 半月体型、mix: 混合型、sci: 硬化型。半月体型においてU-CD11b、U-CD163両者とも増加している。
C, D: U-CD11b(C)、U-CD163(D)と尿蛋白との相関。
E, F: U-CD11b(E)、U-CD163(F)と腎機能との相関。
尿蛋白、腎機能ともにU-CD163でより強固な相関がみられた。

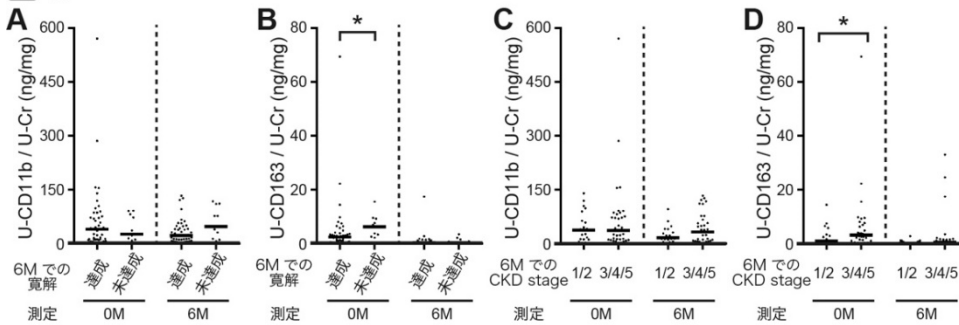
☒ 2



ANCA関連腎炎患者におけるCD11b、CD163各陽性細胞の糸球体内分布

A: ANCA関連腎炎糸球体内のCD11b陽性(左)、CD163陽性(右)細胞。陽性細胞は茶色に染色されている(矢印)。
B: 糸球体内(Glo)、半月体内(Cre)毎のCD11b陽性(左)、CD163陽性(右)細胞数。CD11b陽性細胞は糸球体内により多く集積するのに対し、CD163陽性細胞は糸球体内、半月体内均等に分布する。
D、E: U-CD11b(D)、U-CD163(E)と細胞性半月体形成率との相関。
F: U-CD11b(F)と半月体内CD11b陽性細胞との相関。
G: U-CD163(G)と半月体内CD163陽性細胞との相関。

図 3



ANCA関連腎炎患者におけるU-CD11b、U-CD163値と患者予後

A, B: 診断時(0M)、6ヶ月(6M)でのU-CD11b(A)、U-CD163(B)と、治療6ヶ月後の腎疾患寛解との関連。

診断時のU-CD163は、治療6ヶ月後に寛解に至らなかった患者群で上昇している。

C, D: 診断時(0M)、6ヶ月(6M)でのU-CD11b(C)、U-CD163(D)と、治療6ヶ月後の慢性腎臓病重症度(CKD stage)との関連。

診断時のU-CD163は、治療6ヶ月後に腎機能が低下した患者群で上昇している。

表1

	年齢 (歳)	性別 (男性)	eGFR (mL/min/1.73m ²)	U-P/U-Cr (g/g)	U-CD11b/U-Cr (ng/mg)	U-CD163/U-Cr (ng/mg)
係数 (95% 信頼区間)	-0.23 (-0.36 - -0.10)	+1.93 (-1.4 - +5.25)	-0.50 (-0.56 - -0.43)	-6.4 (-11.2 - -1.6)	+4.3 (+1.0 - +7.7)	+2.8 (-1.6 - +7.2)
p 値	0.001	0.25	<0.001	0.010	0.011	0.21

ANCA関連腎炎患者における年間eGFR変化に対する寄与因子

線形回帰モデルによる多変量解析結果。

診断時年齢、eGFR、尿蛋白は、年間のeGFR低下、診断時のU-CD11b値は、eGFR増加の独立した寄与因子である。

eGFR: 推算糸球体濾過量、U-P: 尿蛋白、U-Cr: 尿クレアチニン

4. 用語説明

1. 抗好中球細胞質抗体(ANCA)

好中球に対する自己抗体。血管炎患者の血液中に存在することが多い。

2. 好中球

5種類ある白血球の1種類で、主に生体内に侵入してきた細菌や真菌類を貪食（飲み込む事）し殺菌を行うことで、感染を防ぐ役割を果たす。

3. マクロファージ

白血球の1種類で生体内をアメーバ様運動する遊走性食細胞。死細胞やその破片、体内の変性物質や細菌などの異物を貪食する。

5. 発表雑誌

掲雑誌名：Nephrology Dialysis Transplantation (NDT)

論文タイトル：Clinical Impact of Urinary CD11b and CD163 on the Renal Outcomes of Anti-neutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Glomerulonephritis

著者：Yuki Yokoe,^{1,2} Naotake Tsuboi,^{1,2,*} Takahiro Imaizumi,¹ Akimitsu Kitagawa,¹ Munetoshi Karasawa,¹ Takaya Ozeki,¹ Nobuhide Endo,¹ Yuriko Sawa,¹ Sawako Kato,¹ Takayuki Katsuno,³ Shoichi Maruyama,¹ and Japan Research Committee of the Ministry of Health,

Labour, and Welfare for Intractable Vasculitis and for Intractable Renal Disease; Kunihiro Yamagata,⁴ Joichi Usui,⁴ Michio Nagata,⁵ Ken-ei Sada,⁶ Hitoshi Sugiyama,⁷ Koichi Amano,⁸ Yoshihiro Arimura,^{9, 10} Tatsuya Atsumi,¹¹ Yukio Yuzawa,² Hiroaki Dobashi,¹² Yoshinari Takasaki,¹³ Masayoshi Harigai,^{14, 15} Hitoshi Hasegawa,¹⁶ Hirofumi Makino,¹⁷ Seiichi Matsuo¹⁸

所属 : ¹Department of Nephrology, Internal Medicine, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

²Department of Nephrology, Fujita Health University Graduate School of Medicine, Toyoake, Japan

³Department of Nephrology and Rheumatology, Aichi Medical University, Nagakute, Japan

⁴Department of Nephrology and ⁵Pathology, Faculty of Medicine, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan

⁶Department of Nephrology, Rheumatology, Endocrinology and Metabolism, and ⁷Department of Human Resource Development of Dialysis Therapy for Kidney Disease, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University Graduate School of Medicine, Okayama, Japan

⁸Department of Rheumatology and Clinical Immunology, Saitama Medical Center, Saitama Medical University, Kawagoe, Japan

⁹Department of Nephrology and Rheumatology, First Department of Internal Medicine, Kyorin University School of Medicine, Tokyo, Japan

¹⁰Kichijoji Asahi Hospital, Musashino, Japan

¹¹Department of Rheumatology, Endocrinology and Nephrology, Faculty of Medicine and Graduate School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan

¹²Division of Hematology, Rheumatology and Respiratory Medicine, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kagawa University, Kita-gun, Japan

¹³Department of Internal Medicine and Rheumatology, Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan

¹⁴Department of Pharmacovigilance and ¹⁵Department of Medicine and Rheumatology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

¹⁶Department of Hematology, Clinical Immunology, and Infectious Diseases, Ehime University Graduate School of Medicine, Toon, Japan

¹⁷Okayama University, Okayama, Japan

¹⁸Nagoya University, Nagoya, Japan

DOI : 10.1093/ndt/gfaa097

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/NDT_200708en.pdf