

新規非侵襲的腎臓病診断法の開発研究

育成研究：JSTイノベーションサテライト宮崎 平成20年度採択課題
「尿中ナノベジクルを利用した新規非侵襲的腎臓病迅速診断法の開発研究」

代表研究者：宮崎大学 農学部 獣医薬理学研究室
教授 池田正浩



■ 研究概要

大きな社会問題となっている腎疾患を早期診断できるバイオマーカーを見出すことを目的に、本研究では、新規診断材料である尿中ナノベジクルを用いた探索研究を行った。その結果、バイオマーカーの候補として、いくつかの分子を見出した。

■ 研究内容、研究成果

国内の透析医療費が年間1兆円を超えていることから分かるように、腎疾患は大きな社会問題となっている。腎疾患患者が多い重要な理由の一つに、早期診断方法が開発されていないことが挙げられる。尿は患者が痛みを伴わず（非侵襲的）に入手でき、非常に魅力的な検査材料である。しかしながら尿中タンパク質には、表1に示したような欠点があるため、実際に腎疾患の診断に応用されたものはほとんどない。我々はそれらの欠点を克服するものとして、表2に示した利点を持つナノベジクルと呼ばれる小胞に注目した。このナノベジクルから新規の腎疾患バイオマーカーを発見することを目的として本研究を実施した。その結果、尿中ナノベジクルタンパク質の一つであるアクアポリン1に、小胞体ストレスが関連する腎障害（急性腎障害など、図1）および終末期腎不全の、アクアポリン2に、虚血再灌流による腎障害（移植後の腎障害、図2）、薬剤性腎障害（抗ガン剤投与の副作用、図3）および終末期腎不全の、また、プログラム細胞死関連タンパク質に腎臓の足細胞の異常に基づく腎疾患それぞれのバイオマーカーとしての可能性を見出した。これらのシーズは、旧来の単純に腎臓が悪いかどうかを診断するバイオマーカーとは異なり、ナノベジクルの性質を考えると、腎臓において組織や細胞の状態まで分かる、次世代のバイオマーカーとなる可能性がある。

■ 今後の展開、将来の展望

現在腎疾患の診断には、30年間変わらず血清クレアチニンなどの非特異的なマーカーが使われている。これらのマーカーは腎疾患の有無については教えてくれるが、腎疾患の原因の特定や疾患の種類を分類することはできない。腎疾患の原因や分類を明確にすることは、治療方針を決定する上で重要であり、現状ではそれを調べるために、腎臓に直接“針”を刺す腎生検という手技（針の中の組織片を顕微鏡で観察して組織の状態を確かめる）を行っている。この手技は確かに有用であるが、手術であるために、実施できる病院に限られること、患者に検査入院などの負担をかけること、さらにある程度病状が進行しないと患者が来院しないために早期診断できないことなどの欠点がある。我々が発見した尿中ナノベジクルアクアポリン1やアクアポリン2を用いて得られる情報は、腎疾患の早期に原因を特定し、分類することに大きく寄与できる可能性がある。また、キットとして実用化できれば、非侵襲的に様々な場所でも利用できる。

今後は、これらのシーズ候補に基づいて病院の既存の設備で迅速に診断できるキットを作製する。実用化に至れば、人類の健康に大きく貢献することになる。さらにここ2年においてナノベジクルタンパク質の解析研究については、10年前の10倍以上の数の論文が発表されている。ナノベジクルを用いたバイオマーカー探索研究が世界規模で精力的に行われている中、先駆的に行ってきた我々の研究成果は、ナノベジクルタンパク質を診断薬として実用化する上で、マイルストーンとなることも期待される。

表1. 尿を用いた診断マーカー探索のこれまでの問題点

由来する細胞（組織）が不明瞭
多数の種類のタンパク質の存在
大量物質（アルブミン、グロブリン）の共存

表2. ナノベジクルタンパク質のメリット

由来する細胞（組織）が明瞭
ナノベジクルタンパク質の30%が膜タンパク質
大量物質が少量
細胞の状態に依存して生成

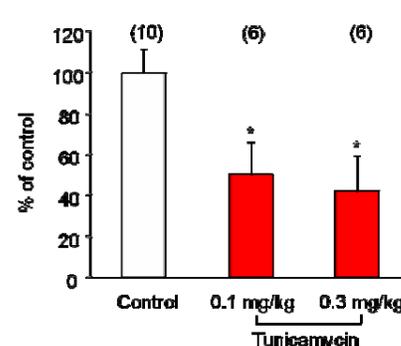


図1. 小胞体ストレス誘導剤Tunicamycin投与後の尿中ナノベジクルアクアポリン1排泄量の変化
Tunicamycin (0.1 mg/kg, 0.3 mg/kg) をラットに投与し、24時間後に測定した。溶媒投与群の尿中ナノベジクルアクアポリン1排泄量を100%として表している。*はコントロール群との間に有意差があったことを示す。（ ）内の数字は例数を示す。この結果は、尿中ナノベジクルアクアポリン1に腎に小胞体ストレスが生じたことを検出する、早期の診断バイオマーカーとなる可能性を示している。

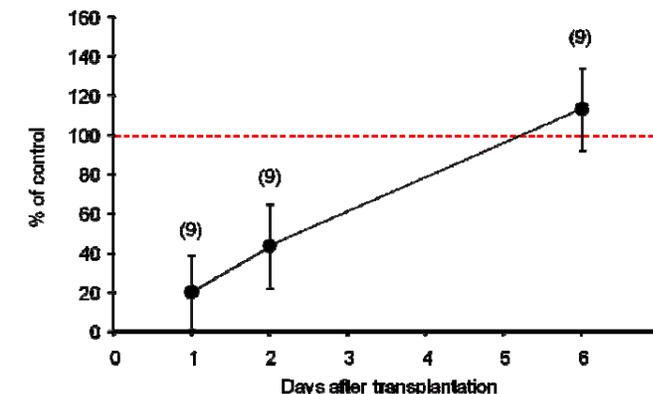


図2. 腎移植患者の尿中ナノベジクルアクアポリン2排泄量の変化
健康由来の尿中ナノベジクルアクアポリン2排泄量を100%として表している。赤の点線は健康由来のレベル。移植1日、2日後に尿中ナノベジクルアクアポリン2排泄量の著明な減少が見られる。この結果は、腎移植では必ず腎に虚血負荷が生じるが、これを尿中ナノベジクルアクアポリン2が早期から感知できる可能性を示している。

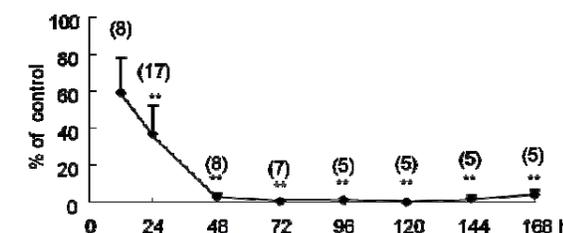


図3. 薬剤性腎不全モデルにおける尿中ナノベジクルアクアポリン2排泄量の変化
溶媒投与群の尿中ナノベジクルアクアポリン2排泄量を100%として表している。尿中ナノベジクルアクアポリン2排泄量は、薬剤投与後24時間から168時間にわたって持続的に減少していた。一方、旧来から診断に用いられている血中クレアチニン濃度は、薬剤投与後48時間以降にしか変化しなかった（図には示していない）。これらのことから、尿中ナノベジクルアクアポリン2は薬剤性腎不全において、早期の診断バイオマーカーとなることが考えられた。

■ 研究体制

◆ 代表研究者

宮崎大学 農学部獣医薬理学研究室 教授 池田正浩

◆ 研究者

園田紘子（宮崎大学）、高橋早樹（宮崎大学）、押川さやか（宮崎大学）、神力はるな（宮崎大学）、河野早弥賀（宮崎大学）、相川千恵（宮崎大学）、水野幸代（宮崎大学）、本部杏奈（宮崎大学）、池田直子（宮崎県立宮崎病院）、上園繁弘（宮崎県立宮崎病院）、上田 章（宮崎県立宮崎病院）、小坂美恵子（アルフレッサ ファーマ株式会社）、加藤誠司（アルフレッサ ファーマ株式会社）、福中茂人（アルフレッサ ファーマ株式会社）

◆ 共同研究機関

宮崎県立宮崎病院
アルフレッサ ファーマ株式会社

■ 研究期間

平成21年4月 ~ 平成24年3月