

令和6年2月

山田健太郎 学位論文審査要旨

主査 山本一博
副主査 梅北善久
同 磯本一

主論文

Fluorescence imaging using enzyme-activatable probes for detecting diabetic kidney disease and glomerular diseases

(糖尿病関連腎臓病および糸球体疾患診断を目的とした酵素活性化プローブによる蛍光イメージング法)

(著者：山田健太郎、高田知朗、井山拓治、濱田晋太郎、前ゆかり、杉原誉明、磯本一)

令和4年 International Journal of Molecular Sciences 23巻 8150

参考論文

A novel method for assessing the renal biopsy specimens using an activatable fluorescent probe

(酵素活性化蛍光プローブを用いた腎生検標本の新規評価法)

(著者：井山拓治、高田知朗、山田健太郎、前ゆかり、谷口宗輔、伊田絢美、小川将也、山本真理絵、濱田晋太郎、福田佐登子、神田努、杉原誉明、磯本一、浦野泰照)

令和2年 Scientific Reports 10巻 12094

学位論文要旨

Fluorescence imaging using enzyme-activatable probes for detecting diabetic kidney disease and glomerular diseases

(糖尿病関連腎臓病および糸球体疾患診断を目的とした酵素活性化プローブによる蛍光イメージング法)

糖尿病は慢性腎臓病の主要な原因であり、糖尿病患者の約40%が慢性腎臓病を合併する。糖尿病性腎症は典型的にはアルブミン尿または蛋白尿を呈し、進行性の腎機能低下を来す。一方で糸球体腎炎、腎硬化症等、その他の病態による糸球体の異常が蛋白尿を呈することもある。これらの糸球体疾患は治療方針が異なるため、病因を特定することが重要である。腎生検は腎疾患を評価するためのゴールドスタンダードであるが、出血等の合併症リスクが問題となる。したがって、簡便で非侵襲的な腎疾患の検査法が必要とされている。

方法

酵素活性化プローブは、 γ -glutamyl transpeptidase (GGT) やdipeptidyl-peptidase (DPP) 等のアミノペプチダーゼ酵素活性を検出する、hydroxymethyl rhodamine green (HMRG) をベースとした試薬である。アミノペプチダーゼを発現している細胞や組織と酵素活性化プローブが反応すると蛍光を発する。この酵素活性化プローブを用いた蛍光イメージングは感度が高く反応が早いことが特徴である。本研究では、酵素活性化プローブを用いた尿の蛍光イメージング法が糖尿病患者の腎疾患診断に適用可能か検討した。

結果

鳥取大学医学部附属病院で超音波ガイド下腎生検を施行した患者を対象とした。尿細管間質性腎炎 (n=7)、薬剤性腎障害 (n=2)、診断不能 (n=3) の12例を除外し、102例の尿を分析した。蛍光強度は、年齢、肥満度 (BMI)、腎機能 (eGFR)、尿蛋白との有意な相関は認めなかった。糖尿病の既往およびDPP-4阻害薬内服の有無は、蛍光強度に影響しなかった。尿の蛍光は、DPP-HMRGでは糸球体腎炎と腎硬化症に対して糖尿病性腎症で有意に強く、GGT-HMRGでは糸球体腎炎に対して腎硬化症で有意に強かった。糖尿病患者25人で比較しても、DPP-HMRGとGGT-HMRGの蛍光強度は同様の結果であった。

考 察

N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG)、 β 2-microglobulin (β 2-MG)、好中球ゼラチナーゼ結合性リポカイン (NGAL) などの尿中バイオマーカーが腎障害の指標として用いられているが、いずれも疾患特異的なものではなく、糖尿病関連腎臓病を鑑別する確立された方法はない。

本研究では、GGT-HMRGの蛍光は糸球体腎炎に対して腎硬化症の尿で有意に強かった。血清GGTと、慢性腎臓病患者の内皮機能障害との関連が報告されており、腎硬化症の尿におけるGGT-HMRGの蛍光は、腎動脈の動脈硬化を反映している可能性がある。

DPP-4は糸球体ポドサイトと近位尿細管細胞の刷子縁に局在しており、DPP-4の尿細管発現は糖尿病モデルラットで増加することが報告されている。また、糖尿病患者の尿中DPP-4濃度が糖尿病性腎症の病期分類に有用である可能性が示されている。

これらの酵素活性を簡便に測定する方法はこれまで無かった。酵素活性化プローブを用いた尿中蛍光診断法は高感度かつ迅速であり、ベッドサイドでも検査が可能である。

本研究ではサンプル数が少ないため、より大規模な研究が必要である。また、検査方法の確立や除外基準の評価、蛍光強度の診断閾値を設定する必要がある。

結 論

酵素活性化プローブを用いた尿の蛍光診断法は、糖尿病患者における腎疾患の非侵襲的評価法として有用である。