

論文内容の要旨

氏名 上田 悟 史

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 医第 1124 号

学位授与の日付 平成 25 年 3 月 22 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

学位論文題目 小児ネフローゼ症候群における Multiple Durg Resistant Gene-1 mRNA 発現量の臨床的有効性の検討

論文審査委員 (主査) 教授 竹 村 司

(副主査) 教授 有 馬 秀 二

(副主査) 教授 高 橋 英 夫

【目的】

Multiple Durg Resistant Gene-1 (*MDR-1*) 遺伝子は、ステロイド (PSL) や免疫抑制薬を細胞外に排出する作用を担うことが明らかになっている。また、各種免疫抑制薬に対する薬剤感受性が、小児ネフローゼ症候群 (NS) の治療経過中にしばしば変化することを経験する。本研究では、小児 NS の治療における薬剤耐性の機序を明らかにするために、*MDR-1* mRNA 発現量を測定し、各個人にあったテララメイドの治療計画を構築することについて検討した。

【方法】

小児 NS 患児 16 例を対象とした。*MDR-1* mRNA 発現量を測定し、血清蛋白量、血清アルブミン量、年齢、リンパ球数、NS の病型、病期および治療法との関係について検討した。

【結果】

MDR-1 mRNA 発現量と血清蛋白量、血清アルブミン量、年齢およびリンパ球数との間には有意な関係は認められず、これらの値を基準とした共通の正常範囲を設定することはできなかった。発現量は、再発時と比べて、再発後の治療時に、有意に低値を示した ($p=0.010$)。また、病型別に分けて、*MDR-1* mRNA 発現量の変化を検討したところ、SRNS 群で有意な差を認めた ($p=0.016$)。LDL 吸着療法 (LDL-A) を併用した群では、カルシニューリン阻害薬 (CA) を用いた群より、有意に発現量の低下を認めた ($p=0.039$)。

【考察】

MDR-1 mRNA 発現量と年齢およびリンパ球数と血清蛋白量および血清アルブミン量との間に相関関係はなく、*MDR-1* mRNA 発現は、これら以外の要因により制御されているものと思われた。*MDR-1* mRNA 発現量は、治療後に低下し、尿蛋白の改善を認め、PSL の減量も可能となった。これは、治療により *MDR-1* mRNA 発現量が低下し、薬剤感受性の改善を示唆しているものと思われた。LDL-A は、脂質異常症状態の改善のみならず、直接的に *MDR-1* mRNA 発現の調節に関わる何らかの体液性因子の除去や減少に影響を与えている可能性も考えられ、今後その因子を同定する必要がある。各個人における *MDR-1* mRNA 発現の基礎値を設定し、その発現量をモニタリングすることは、個人個人に応じたテララメイドの治療を考えるうえで、有効な指標になり、また副作用の軽減や免疫抑制薬の総投与量の減少効果に寄与するものと考えられる。

【結論】

MDR-1 mRNA 発現量の測定は、小児 NS の治療計画を考えるうえで有効な指標になりうる可能性がある。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	平成 25 年 月 日 公表予定	出版物名
	公 表 内 容	近畿大学医学雑誌 第 38 巻 第 1.2 号
	全 文 と 要 約	平成 25 年 月 日 発行予定

論文審査結果の要旨

【緒言】

ネフローゼ症候群の病因は、糸球体上皮細胞が、遺伝的要因、リンパ球由来の体液性因子あるいは抗原抗体複合物などで障害されることにより、スリット膜の障害を起こし、その結果、糸球体基底膜の透過性を亢進させ、蛋白尿や低蛋白血症の出現、および全身性浮腫が生じる。我が国では、1年間に約1200人が新規発症例として小児慢性特定疾患治療研究事業に登録されている。

薬剤耐性は種々な機序で生じるが、白血病などの抗癌剤治療における薬剤耐性発現の研究から、細胞膜上に存在するP糖蛋白と、その責任遺伝子である multiple drug resistant gene-1 (*MDR-1*) 遺伝子が、薬剤を細胞外に排出する作用を担うことが明らかとなった。

田中らは、薬剤抵抗性を示したSLE患者において、末梢血リンパ球中のP糖蛋白の発現が亢進していたこと、この発現量が治療計画を考える指標となることを報告している。また、初発・再発SSNS症例では、寛解後に*MDR-1* mRNA 発現量が減少することが報告されている。

本研究では、末梢血リンパ球中の*MDR-1* mRNA 発現量をPCR法で測定し、*MDR-1* mRNA 発現量の変化をモニタリングすることで、小児NS患児における治療計画の指標となり得るかどうかについて検討した。

【対象および方法】

1. 対象

本研究は、近畿大学医学部倫理委員会の承認を得た後、近畿大学臨床試験規定に基づく書面によるインフォームドコンセントを得た、小児NS患児16例を対象とした。すべての小児NS患児は、小児特発性ネフローゼ症候群薬物治療ガイドライン1.0版に従って診断した。

2. *MDR-1* mRNA 発現量の測定方法

患者の末梢血中RNAを用いて、cDNA合成を行った。Real-time PCRは、Stordeurらの方法(TaqMan法)を用いた。*MDR-1* mRNA 発現量は、蛍光強度のbasal lineの検量線を決定し、各患者の測定ポイントにおける末梢血中の*MDR-1* mRNAの絶対量を定量化した。

3. *MDR-1* mRNA 発現量の検討項目

MDR-1 mRNA 発現量と血清蛋白量、血清アルブミン量、年齢、リンパ球数、NSの病型、病期および治療法との関係について検討した。病型別にFRNS・SSNSとSRNSに分けて、*MDR-1* mRNA 発現量を検討した。治療法は、ステロイド群(PSL群)、カルシニューリン(CA)阻害薬を用いた群(CA群)、およびLDL-Aを併用した群(LDL-A群)に分類し、発現量を検討した。

4. 統計的解析

統計処理は、*MDR-1* mRNA 発現量と血清蛋白量、血清アルブミン量、年齢およびリンパ球数については相関係数を用いた。*MDR-1* mRNA 発現量と病型、病期および治療法との関係についてはstudent-t検定を用い、それ以外は、paired-t検定にて検討した。

【結果】

MDR-1 mRNA 発現量の測定回数は、計62回であった。

発現量と血清蛋白量、血清アルブミン量、年齢およびリンパ球数との間には有意な関係は認められなかった。*MDR-1* mRNA 発現は、各個人で一定ではなく、様々な値を呈した。共通の正常範囲を設定することはできなかった。

FRNS・SSNSとSRNSの間には、有意な差を認めなかった。再発時と寛解時にも、有意な差は認められなかった。再発後の治療時には、再発時と比べて、有意に低値を示した。病型別に分けて、*MDR-1* mRNA 発現量の変化を検討したところ、SRNS群で有意な差を認めた。LDL-A群では、CA群より有意に*MDR-1* mRNA 発現量の減少を認めた。

【考察】

我々の検討でも、*MDR-1* mRNA 発現量と年齢、リンパ球数、血清蛋白量および血清アルブミン量との間に相関関係はなく、*MDR-1* mRNA 発現には、これら以外の要因により制御されているものと思われる。

再発後の治療時の*MDR-1* mRNA 発現量の測定は、治療効果と治療薬の減量の可否を判定する一つの指標になる可能性がある。

LDL-Aは、*MDR-1* mRNA 発現の調節に関わる何らかの体液性因子の除去や減少に影響を与えている可能性も考えられた。*MDR-1* mRNA 発現量は、各個人で様々であり、発現量の全人に共通する正常範囲は定まっていない。そのため、各症例ごとに基礎値を設定する必要がある。

長期間経過を観察し得た症例において、寛解時における*MDR-1* mRNA 発現量は $27,850 \pm 14,397$ であり、これを基準となる値と設定した場合、再発時には増加し、LDL-A療法後には著明に低下するといった傾向がみられた。すなわち、このことは、寛解時での発現量は、その個人における*MDR-1* mRNA 発現量の基礎値を反映していると考えられる。

我々の難治性NS例において、CyAにLDL-Aを加えた治療を行い、さらにm-PSLパルス治療を追加したところ、速やかな寛解が得られた。したがって、これらを組み合わせた療法は、難治性NSに対する治療法の一つになる可能性がある。

LDL-A後の注意すべき点として、施行後にその発現量が急激に増加することであった。この現象は、発現量が急激に減少したことで、生体が基礎値に回復しようとする正のフィードバックが生じた結果ではないかと推察している。したがって、今後、この治療計画を実施する場合には、この正のフィードバックをコントロールする手段を考慮する必要があると考えられた。

各個人における*MDR-1* mRNA 発現の基礎値を設定し、その発現量をモニタリングすることは、個人個人に応じたテーラーメイドの治療を考えるうえで、有効な指標になり、また副作用の軽減や免疫抑制薬の総投与量の減少効果に寄与するものと考えられる。