

2012. 6

特集号



(題字：脇口宏学長)

# 国立大学法人 高知大学学報

## 高知大学学位授与記録第五十六号

法人企画課広報戦略室発行

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、高知大学学位規則第14条に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

\*\*\*\*\*  
 \*  
 \*  
 \*  
**高知大学学報**  
 \*  
 \*  
 \*  
 \*\*\*\*\*

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

目 次

学位記番号	氏 名	学位論文の題目	ページ
甲総医博第8号	島村 芳子	Serum levels of soluble secreted $\alpha$ -Klotho are decreased in the early stages of chronic kidney disease, making it a probable novel biomarker for early diagnosis (慢性腎臓病における血清遊離型 $\alpha$ -Klotho の早期バイオマーカーとしての有用性の検討)	1

氏名(本籍)	島村 芳子(高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第8号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成24年4月27日
学位論文題目	Serum levels of soluble secreted $\alpha$ -Klotho are decreased in the early stages of chronic kidney disease, making it a probable novel biomarker for early diagnosis (慢性腎臓病における血清遊離型 $\alpha$ Klothoの早期バイオマーカーとしての有用性の検討)
発表誌名	Clinical and Experimental Nephrology: 掲載予定

審査委員	主査	教授	高尾	俊弘
	副査	教授	執印	太郎
	副査	教授	奥原	義保

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学 位 論 文 要 旨

氏 名 島村 芳子

## 論 文 題 目

Serum levels of soluble secreted  $\alpha$ -Klotho are decreased in the early stages of chronic kidney disease, making it a probable novel biomarker for early diagnosis

(慢性腎臓病における血清遊離型  $\alpha$ -Klotho の早期バイオマーカーとしての有用性の検討)

(論文要旨)

【背景】慢性腎臓病(CKD)は既に日本においても一般的な疾患として認識されており、その早期診断・早期治療介入はCKDの進行を抑制するだけでなく、心血管イベントを阻止するためにも非常に重要である。新規のCKDバイオマーカーとして現在注目されているのがFibroblast Growth Factor (FGF) 23の存在であり、FGF23がCKD患者において著明に増加し、骨リン代謝に重要な働きをすることは既に複数の報告がある。今回報告する $\alpha$ -Klotho蛋白は特に腎臓の遠位尿細管に存在しFGF受容体と複合体を形成しFGF23に特異的な受容体として機能している膜型 $\alpha$ -Klothoと、膜型 $\alpha$ -Klothoからmembrane-anchored proteasesによって切り取られることによって血中に遊離して存在している遊離型 $\alpha$ -Klothoが存在する。遊離型 $\alpha$ -KlothoはFGF23とは独立してリン代謝の調節因子として機能している可能性が既に知られており、CKDにおいてリン代謝のみでなく、様々な重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。しかし、CKD患者における大規模な血清遊離型 $\alpha$ -Klotho値の測定の結果はこれまでにされておらず、特にFGF23・リン・クレアチニン値との相関は報告されていない。今回、血清遊離型 $\alpha$ -Klothoと腎機能・年齢・血中FGF23濃度との相関について明らかにし、血清遊離型 $\alpha$ -KlothoのCKDにおける新規の早期バイオマーカーとしての有用性を検討する。

【方法】対象は当院および関連医療機関の腎臓内科外来に通院中患者292名(男/女,167/125,年齢 $63.8 \pm 16.0$ 歳)。各施設の倫理委員会承認後、ICを得て血清を採取し、血清遊離型 $\alpha$ -Klotho濃度を測定(IBL社)。これに加え血清Cr・カルシウム・リン等の一般的な腎障害パラメーター、また血中FGF23値(Kinos社)を測定した。全てのデータは平均 $\pm$ SDで表記。それぞれの相関関係はPearsonの相関係数を用いて解析し、ステージ間の比較にはx<sup>2</sup>検定・Dunnett検定・一元配置の分散分析を用いて検討した。また、単回帰分析で認められた関係が独立したものか検討するため、 $\alpha$ -Klothoを目的変数としてステップワイズ回帰分析を行った( $P < 0.05$ )。今回の全ての統計解析はJMP(Ver.6)を使用した。

【結果】血清遊離型 $\alpha$ -KlothoはeGFRとは正の相関を示し( $P < 0.0001$ ;  $r = 0.441$ )、一方血清Crとは負の相関を示した( $P < 0.01$ ;  $r = -0.181$ )。最も注目すべきは、血清遊離型 $\alpha$ -KlothoはCKD




ステージ1と比較してステージ2で明らかに低下を示したことである( $P=0.0001$ )。しかし、ステージ1と2のグループの特徴を検討した際にステージ1は2と比較して年齢層が若いことから、前述した結果に年齢の要素が強く関与している可能性が示唆された。そこで、ステージ1と2の群に限定して血清遊離型  $\alpha$ Klotho を目的変数としてステップワイズ回帰分析をおこなったが、ステージ1と2に限定した群ではステージが最も有力な説明因子であり( $\beta=0.294$ ,  $F=4.710$ ;  $\text{totalR}^2=0.2260$ ,  $P=0.0001$ )、年齢・ヘモグロビンは棄却されることが分かった。その他、血清遊離型  $\alpha$ -Klotho は年齢( $P < 0.0001$ ;  $r = -0.345$ )、BUN ( $P < 0.001$ ;  $r = -0.201$ )、UA ( $P < 0.001$ ;  $r = -0.198$ )とは負の相関を示し、Hb とは正の相関を示した ( $P < 0.05$ ;  $r = 0.139$ )。最後に、血清遊離型  $\alpha$ -Klotho と対数化した血中 FGF23 は負の相関を示した( $P < 0.01$ ;  $r = -0.156$ )。以上のように血清遊離型  $\alpha$ Klotho は eGFR を始め、対数化 FGF23 など複数の因子との関連が単回帰分析で認められた。そこで単回帰分析で認められたそれらの関係が独立したものか検討するため、 $\alpha$ Klotho を目的変数としてステップワイズ回帰分析をおこなった。その結果、eGFR が最も有力な説明因子であることがわかった ( $\beta=0.604$ ,  $F=70.725$ ;  $\text{totalR}^2=0.2308$ ,  $P < 0.0001$ )。

【考察】CKD の早期診断はCKD の進行を阻止するだけでなく、心血管疾患を含む合併症の予後を左右する重要な課題である。今回の検討で血清遊離型  $\alpha$  Klotho が早期ステージのCKD を診断するために有用なバイオマーカーである可能性が示唆されたが、我々の知りうる範囲では血清遊離型  $\alpha$  Klotho が早期であるステージ2で既に低下しているという報告は今回の報告が初めてである。我々のデータでは血清遊離型  $\alpha$  Klotho は特に早期ステージにおける新たな感度の良いバイオマーカーになりうることを示唆している。

早期に  $\alpha$  Klotho が低下するメカニズムとしては、遊離型  $\alpha$  Klotho は遠位尿細管に存在している膜型  $\alpha$  Klotho から切り離されて血清中に遊離していると考えられていることから、血清遊離型  $\alpha$  Klotho の低下は膜型  $\alpha$  Klotho の低下を反映していると考えられる。そのことから早期CKDでも既にわずかであってもネフロン数の低下が生じている可能性が示唆される。さらに膜型  $\alpha$  Klotho は FGF23 に特異的な受容体として機能しており、膜型  $\alpha$  Klotho 数の減少は FGF23 の機能を阻害すると考えられる。また近年、レニン-アンギオテンシン-アルドステロン系 (RAAS) は腎臓での  $\alpha$  Klotho の発現を低下させるとの報告が注目されており、さらにCKDではRAASが活性化すると報告がある。このRAASの活性化が我々の検討で認めた早期CKDにおける血清遊離型  $\alpha$  Klotho 値の低下の原因である可能性が考えられる。

我々のデータでもCKD患者においても血清遊離型  $\alpha$  Klotho 値は年齢の要素に強く影響されることが示唆された。よって、血清遊離型  $\alpha$  Klotho をCKDのバイオマーカーとして使用する際にはその評価に年齢を考慮に入れる必要がある。血清遊離型  $\alpha$  Klotho の機序を検討するためには血清遊離型  $\alpha$  Klotho 値のCKD患者と健常人とのさらなる検討が今後の課題である。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名	島村 芳子
審 査 委 員	主 査 氏 名	高 尾 俊 弘 
	副 査 氏 名	執 印 太 郎 
	副 査 氏 名	奥 原 義 保 

題 目 Serum levels of soluble secreted  $\alpha$ -Klotho are decreased in the early stages of chronic kidney disease, making it a probable novel biomarker for early diagnosis  
 (慢性腎臓病における血清遊離型  $\alpha$  Klotho の早期バイオマーカーとしての有用性の検討)

著 者 Yoshiko Shimamura, Kazu Hamada, Kosuke Inoue, Koji Ogata, Masayuki Ishihara, Toru Kagawa, Mari Inoue, Shimpei Fujimoto, Mika Ikebe, Kenji Yuasa, Shigeo Yamanaka, Teturo Sugiura, Yoshio Terada

発表誌名、巻(号)、ページ( ~ )、年 月  
 Clinical and Experimental Nephrology (in press)

### 要 旨

【背景・目的】慢性腎臓病(CKD)は既に日本においても一般的な疾患として認識されており、その早期診断・早期治療介入は CKD の進行を抑制するだけでなく、心血管イベントを阻止するためにも非常に重要である。新規の CKD バイオマーカーとして現在注目されているのが Fibroblast Growth Factor (FGF) 23 の存在であり、FGF23 が CKD 患者において著明に増加し、骨リン代謝に重要な働きをすることは既に複数の報告がある。

一方、 $\alpha$  Klotho 蛋白は特に腎臓の遠位尿細管に存在し、FGF 受容体と複合体を形成し FGF23 に特異的な受容体として機能している膜型  $\alpha$  Klotho と、膜型  $\alpha$  Klotho から membrane-anchored proteases によって切り取られることで血中に遊離して存在している遊離型  $\alpha$  Klotho が存在する。遊離型  $\alpha$  Klotho は FGF23 とは独立してリン代謝の調節因子として機能している可能性が既に知られており、CKD においてリン代謝のみでなく、様々な重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。しかし、CKD 患者における大規模な血清遊離型  $\alpha$  Klotho 値の測定の報告はこれまでにされておらず、特に FGF23、リン、クレアチニン値との相関は報告されていない。申請者らは血清遊離型  $\alpha$  Klotho と腎機能、年齢、血中 FGF23 濃度との相関について明らかにし、血清遊離型  $\alpha$  Klotho の CKD における新規の早期バイオマーカーと

しての有用性を明らかにしようとした。

【方法】対象は高知大学附属病院および関連医療機関の腎臓内科外来に通院中患者 292 名（男/女, 167/125, 年齢 63.8±16.0 歳）。各施設の倫理委員会承認後、インフォームドコンセントを得て血清を採取し、血清遊離型  $\alpha$ -Klotho 濃度を測定した。これに加え血清 Cr、カルシウム、リン等の一般的な腎障害パラメーター、また血中 FGF23 値を測定した。それぞれのパラメーターの相関関係は Pearson の相関係数を用いて解析し、ステージ間の比較には  $\chi^2$  検定・Dunnett 検定、一元配置の分散分析を用いて検討した。また、単回帰分析で認められた関係が独立したものか検討するため、 $\alpha$ -Klotho を目的変数として重回帰分析を行った。

【結果】血清遊離型  $\alpha$ -Klotho は eGFR とは正の相関を示し、血清 Cr とは負の相関を示した。血清遊離型  $\alpha$ -Klotho は CKD ステージ 1 と比較してステージ 2 で明らかに低下を示した。ステージ 1 と 2 のグループの特徴を検討した結果、ステージ 1 は 2 に比較して年齢層が若いことから、年齢の要素の検討をおこなった。ステージ 1 と 2 の群に限定して血清遊離型  $\alpha$ -Klotho を目的変数として重回帰分析をおこなったところ、ステージが最も有力な説明因子であり、年齢、ヘモグロビンは棄却された。その他、血清遊離型  $\alpha$ -Klotho は年齢、BUN、UA とは負の相関を示し、Hb とは正の相関を示した。最後に、血清遊離型  $\alpha$ -Klotho と対数化した血中 FGF23 は負の相関を示した。以上のように血清遊離型  $\alpha$ -Klotho は eGFR をはじめ、対数化 FGF23 など複数の因子との関連が単回帰分析で認められた。そこで単回帰分析で認められたそれらの関係が独立したものか検討するため、 $\alpha$ -Klotho を目的変数としてステップワイズ回帰分析をおこなった。その結果、eGFR が最も有力な説明因子であった。

以上より今回の検討で血清遊離型  $\alpha$ -Klotho が早期ステージの CKD における新たな感度の良いバイオマーカーになりうることが示唆された。遊離型  $\alpha$ -Klotho は遠位尿細管に存在している膜型  $\alpha$ -Klotho から切り離されて血清中に遊離していると考えられていることから、早期の血清遊離型  $\alpha$ -Klotho 低下は膜型  $\alpha$ -Klotho の低下を反映していると考えられる。すなわち早期 CKD でも既にネフロン数の低下が生じている可能性が示唆された。さらに膜型  $\alpha$ -Klotho は FGF23 に特異的な受容体として機能しており、膜型  $\alpha$ -Klotho 数の減少は FGF23 の機能を阻害すると考えられた。またレニン-アンギオテンシン-アルドステロン系の活性化が早期 CKD における血清遊離型  $\alpha$ -Klotho 値の低下の原因である可能性も考えられた。

本論文は、血清遊離型  $\alpha$ -Klotho が CKD の診断に有用なバイオマーカーになりうる可能性を示したものといえ、本研究の発展により CKD のより早期診断が可能となれば末期腎不全患者数の抑制に繋がる可能性がある。よって、本論文は、高知大学博士(医学)に値すると判断した。