

氏名 かけした こうた
掛下 幸太

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 富医薬博乙第99号

学位授与年月日 令和5年2月8日

学位授与の要件 富山大学学位規則第3条第4項該当

学位論文題目

Altered arginine vasopressin-cyclic AMP-aquaporin 2 pathway and
prognostic impact of urine cyclic AMP levels in patients with chronic
kidney disease

(慢性腎臓病患者におけるバソプレシン-cyclic AMP-アクアポリン2経路の
変化と尿中cyclic AMP濃度の予後への影響)

論文審査委員

(主査)	教授	北村 寛
(副査)	教授	森 寿
(副査)	教授	平林 健一
(副査)	准教授	仁井見 英樹
(紹介教員)	教授	絹川 弘一郎

論 文 要 旨

論 文 題 目

**Altered arginine vasopressin-cyclic AMP-aquaporin 2 pathway
and prognostic impact of urine cyclic AMP levels
in patients with chronic kidney disease**

慢性腎臓病患者における
バソプレシン-cyclic AMP-アクアポリン2経路の変化と
尿中cyclic AMP濃度の予後への影響

氏 名 _____ 掛 下 幸 太 _____

備考 ① 論文要旨は，2,000字程度とする。

② A4判とする。

〔目的〕

尿を希釈および濃縮する能力は、体液の量や浸透圧を保つための重要な機能であり、腎集合管におけるバソプレシン (AVP) -環状アデノシンーリン酸 (cAMP) -アクアポリン2 (AQP2) 経路がその中心的な役割を果たす。血中浸透圧の上昇により下垂体後葉からAVPが分泌され、腎集合管でバソプレシンタイプ2 (V2) 受容体に結合する。アデニル酸シクラーゼを介してcAMPが合成され、AQP2のリン酸化および尿細管腔側への移動を促し、自由水の再吸収が生じ、尿は濃縮し血中浸透圧は低下する。慢性腎臓病 (CKD) 患者においては、腎機能障害の進行に連れて尿の希釈力および濃縮力は低下することが知られている。しかし、CKD患者におけるAVP-cAMP-AQP2経路異常の詳細な病態生理は不明であり、その臨床的な意義も十分に確立していない。

私は、尿を希釈および濃縮する腎集合管の残存能力を推し測るために尿中cAMP濃度が有用であると仮定を立て、CKD患者における①AVP-cAMP-AQP2経路に関連する血中および尿中マーカーの関係、②尿中cAMPが腎予後に及ぼす影響について調べた。

〔方法並びに成績〕

方法①

2015年12月から2020年7月の期間において、推定糸球体濾過量(eGFR) 60 mL/min/1.73 m²未満で病状の安定したCKD患者を対象とした。透析患者、V2受容体拮抗薬や抗うつ薬を服用中の患者は除外した。空腹時に血液および尿を採取し、血清浸透圧、血漿AVP、尿中cAMP、尿中AQP2、尿浸透圧を測定し、CKDステージ毎にそれぞれの関係を検討した。

成績①

121例のCKD患者 (年齢の中央値71歳、男性89例、eGFRの中央値28.6 mL/min/1.73 m²) を対象とした。59例はG3 (eGFR 30–59 mL/min/1.73 m²)、36例はG4 (eGFR 15–29 mL/min/1.73 m²)、26例はG5 (eGFR <15 mL/min/1.73 m²) であり、46例はループ利尿薬を服用していた。eGFRの低下とともに血清浸透圧は上昇し、血清浸透圧の上昇とともに血漿AVPは上昇した。一方、eGFRの低下とともに尿中cAMP、尿中AQP2、尿浸透圧は低下した。血漿AVPに対する尿中cAMPはばらつきが大きかったが、CKDステージが進行しても尿中cAMPと尿中AQP2、尿中AQP2と尿浸透圧の正の相関関係は保たれていた。

方法②

2015年12月から2019年12月の期間において、eGFR 60 mL/min/1.73 m²未満で病状の安定したCKD患者を対象とした。透析中、V2受容体拮抗薬服用中、免疫抑制療法中、多発性嚢胞腎の患者は除外した。ガイドラインに準じた標準的なCKD治療を行いなが

ら、前向きに 2022 年 1 月まで観察し、透析導入、心血管死亡、血清クレアチニン濃度の倍化で定義した複合エンドポイントに及ぼす尿中 cAMP の影響を調べた。

成績②

106例のCKD患者（年齢の中央値72歳，男性80例，eGFRの中央値28.4 mL/min/1.73 m²）を対象とした。尿中cAMPは中央値1.99 nmol/mg of creatinineで0.35から4.08 nmol/mg of creatinineの間に広く正規分布していた。1.55 nmol/mg of creatinineをカットオフ値とすると，尿中cAMP高値群74例と比較して，尿中cAMP低値群32例では糖尿病の有病率が高く，より腎機能障害は進行していた。

中央値2.8年の追跡期間中に40例が複合エンドポイント（22例は透析導入，1例は心血管死亡，17例は血清クレアチニン濃度の倍化）を迎えた。複合エンドポイントを予測する尿中cAMPを評価するためにReceiver operating characteristic curve解析を行ったところ，上記のカットオフ値1.55 nmol/mg of creatinineが算出された（感度 0.68，特異度 0.92，曲線下面積 0.84）。尿中cAMPは複合エンドポイントの有意な予測因子であった（未調整ハザード比 0.14（95%信頼区間 0.08–0.25， $p < 0.001$ ）。Cox比例ハザード比回帰分析を用いて関連因子を調整したところ，尿中cAMPは複合エンドポイントの独立した予測因子であった（年齢と性別による調整ハザード比 0.13（95%信頼区間 0.07–0.23， $p < 0.001$ ），eGFRを含む5つのパラメータによる調整ハザード比 0.41（95%信頼区間 0.18–0.91， $p = 0.029$ ）。複合エンドポイントの累積発生率は尿中cAMP高値群に比較して，尿中cAMP低値群で有意に高かった（23% 対 100%， $p < 0.05$ （log-rank test））。

6ヵ月以上の経過観察が行えた89例において，年間eGFR変化率（eGFR slope）を評価したところ，尿中cAMPが低いほどeGFR slopeは低く（ $r = 0.46$ ， $p < 0.005$ ），より腎機能障害の進行が速いことが示唆された。

〔総括〕

eGFRの低下とともに血漿AVPに対する尿中cAMPは低下したことから，進行したCKD患者では特にV2受容体が障害されていることが示唆された。一方，CKDが進行してもV2受容体から下流の経路である尿中cAMP-AQP2-浸透圧の関係は比較的保たれていた。腎集合管は虚血に対する耐性が比較的強いとされる一方，その解剖学的特性から尿路の感染や閉塞による影響を受けやすいため，腎集合管の残存機能は必ずしも糸球体濾過量とは平行しないものと考えられる。実際の臨床において，腎集合管の残存機能を推定する簡便で有用な指標は確立していないが，今回の研究から尿中cAMPがその有用なマーカーとなり得ることが示唆された。

さらに，今回のCKDコホートにおいて，尿中cAMPの低下は複合エンドポイントの独立した予測因子であり，尿中cAMPが低いほど腎機能障害の進行が速いことが示唆された。これ

は、腎集合管の残存機能は糸球体濾過量とは別の指標とは言え、全腎機能としては密接に関連しており、尿中cAMPの低下はeGFRとは独立した腎予後不良の予測因子であることが考えられた。

尿中cAMPのさらなる臨床的有用性として、V2受容体拮抗薬であるトルバプタンの効果を尿中cAMPによって推定できるかどうかは今後の検討課題である。

学位論文審査の要旨

報告番号	富医薬博甲第 号 富医薬博乙第 号	氏 名	掛下 幸太
論文審査委員	職 名	氏 名	
	(主査) 教授	北村 寛	
	(副査) 教授	森 寿	
	(副査) 教授	平林 健一	
(副査) 准教授	仁井見 英樹		
指導(紹介)教員	教 授	絹川 弘一郎	
(論文題目 英文の場合は和訳, 日本語の場合は英訳を付記すること) Altered arginine vasopressin-cyclic AMP-aquaporin 2 pathway and prognostic impact of urine cyclic AMP levels in patients with chronic kidney disease (慢性腎臓病患者におけるバソプレシン-cyclic AMP-アクアポリン2経路の変化と尿中cyclic AMP濃度の予後への影響)			(判定) 合 格
(論文審査の要旨)			
【背景と目的】			
腎集合管におけるバソプレシン(AVP)-cyclic AMP (cAMP)-アクアポリン2(AQP2)経路は、尿の希釈および濃縮に関して重要な役割を果たしている。血中浸透圧が上昇すると下垂体後葉からAVPが分泌され腎集合管でバソプレシントイプ2(V2)受容体に結合し、アデニル酸シクラーゼを介してcAMPを合成、AQP2のリン酸化および尿細管腔側への移動を促進する。その結果、自由水の再吸収が生じ、尿は濃縮、血中浸透圧が低下する。このように、AVP-cAMP-AQP2は体液量や血中浸透圧を保つために重要であるにも関わらず、慢性腎臓病(CKD)患者における詳細な病態生理や臨床的意義は不明である。掛下氏は本研究において、CKD患者における腎集合管の残存能力を推測する観点から尿中cAMP濃度に着目し、AVP-cAMP-AQP2経路に関する血中および尿中マーカーの同定と、尿中cAMPが腎予後に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。			
【対象と方法】			
掛下氏は以下の2つの臨床研究を実施した。			
研究1: 2015年12月から2020年7月の間に推定糸球体濾過量(eGFR) 60 mL/min/1.73 m ² 未満で病状の安定したCKD患者を対象とし、血清浸透圧、血漿AVP、尿中cAMP、尿中AQP2、尿浸透圧を測定し、CKDステージ毎にそれぞれの相関関係を検討した。			
研究2: 2015年12月から2019年12月の間にeGFR 60 mL/min/1.73 m ² 未満で病状の安定したCKD患			

者を対象としてベースラインの尿中cAMPを測定し、透析導入、心血管死亡および血清クレアチニン濃度の2倍化で定義した複合エンドポイントに及ぼす尿中cAMPの影響を前向きに検討した。

【結果】

研究1: 121名の患者を登録し、年齢中央値71歳、男性89例、eGFR中央値28.6 mL/min/1.73m²であった。CKDステージの内訳は、G3 59例、G4 36例、G5 26例だった。eGFRの低下とともに血清浸透圧は上昇し、同時に血漿AVPが上昇、尿中cAMP、尿中AQP2、尿浸透圧は低下した。血漿AVPと尿中cAMPの相関関係は個人差が大きかったが、CKDステージが進行しても尿中cAMP-尿中AQP2間および尿中AQP2-尿浸透圧間の正の相関関係は保たれていた。

研究2: 106名の患者を登録し、年齢中央値72歳、男性80例、eGFR中央値28.4 mL/min/1.73m²であった。中央値2.8年の観察期間中に40名(37.7%)が複合エンドポイントを迎えた。Cox比例ハザード比回帰分析を行ったところ、尿中cAMPは複合エンドポイントの独立した予測因子であった(ハザード比0.13、95%信頼区間0.07-0.23、 $p < 0.001$)。Receiver operating characteristic curve解析により、尿中cAMP 1.55 nmol/mg of creatinineのカットオフ値が算出された(感度0.68、特異度0.92、曲線下面積0.84)。複合エンドポイント累積発生率は尿中cAMP高値群と比較して低値群で有意に高かった(23% vs. 100%, $p < 0.05$, log-rank)。さらに6ヶ月以上の経過観察が可能であった89例において年間eGFR変化率(eGFR slope)を評価すると、尿中cAMPが低いほどeGFR slopeは低く($r = 0.46$, $p < 0.005$)、より腎機能障害の進行が速い傾向が認められた。

【総括】

本研究ではeGFRの低下とともに血漿AVPに対する尿中cAMPは低下したことから、進行したCKD患者では特にV2受容体が障害されていることが示唆された。一方、CKDが進行してもV2受容体から下流の経路である尿中cAMP-AQP2-浸透圧の関係は比較的保たれていた。腎集合管は虚血に対する耐性は比較的強いものの、尿路感染や閉塞による影響を受けやすいため、その残存機能は必ずしも糸球体濾過量とは平行しないと考えられている。これまでは腎集合管の残存機能を推定する方法は確立していなかったが、本研究により尿中cAMPが有用なマーカーとなり得ることが示唆された。さらに尿中cAMPの低下はeGFRとは独立した腎予後の予測因子であることも示された。

掛下氏は本研究において、CKD患者における尿中cAMPに着目し、その腎集合管残存機能推定マーカーとしての意義や腎予後の予測因子となることを初めて明らかにした点に新規性があり、学術的重要性が高い。また尿中cAMPをV2受容体拮抗薬の治療効果判定に応用できる可能性を示した点で臨床的発展性が期待できる。以上より、本審査会は本論文を博士(医学)の学位に十分値すると判断した。