

血液透析患者における身体活動度と ナチュラルキラー細胞活性の検討

永井 恵

筑波大学医学医療系腎臓内科学/日立総合病院

key words : ナチュラルキラー細胞, 血液透析, 慢性腎不全, 身体活動度

要 旨

本邦の維持透析患者の死因として、感染症が漸増している。維持透析患者は、流行性ウイルス感染の重症化率が高い。ウイルスは、自然免疫と獲得免疫により体内から排除される。後者は抗原特異的な反応であるため、原則的には新興感染症や流行性感染症には効果せず、主として自然免疫が感染制御に重要な役を担う。自然免疫におけるウイルスの排除機構で、中心的なのはナチュラルキラー（NK）細胞である。透析患者において身体活動度も重要であり、筋力や心肺機能に関連して予後に影響を与えうる。本研究課題では、血液透析患者のNK細胞活性を測定し、患者の疾患背景や身体活動度との関連を検証した。仮説として、「身体活動度の維持によりNK細胞機能が保持され、結果としてウイルス感染の顕性化や重症化が抑制される」ことをあげたが、対象症例にウイルス感染による死亡のアウトカムがなく、また、NK細胞活性と握力、4 m 歩行テスト、立ち座りテストのいずれも有意な相関が認められなかった。しかしながら、9月と12月のNK細胞活性の比較において、12月における著明な増加（ $15.2 \pm 7.9\%$ vs $23.9 \pm 9.8\%$ ）が認められた。冬季の流行性ウイルス感染症との関連は不明であるが、維持透析患者におけるNK細胞機能の季節性あるいはウイルス感染流行期の変化である可能性がある。

1 目 的

本邦の維持透析患者の死因として、感染症が漸増し

ている¹⁾。透析患者における感染症の発症には、あらゆる免疫細胞の機能低下が関与していると考えられている²⁾。その一例として、感染防御に重要な役割を担うナチュラルキラー（NK）細胞が血液透析患者において機能不全に陥ることが示された³⁾。

NK細胞は、自己と非自己を、細胞表面に発現する免疫受容体を介して認識する。自己を認識した場合には抑制性シグナルを、非自己（感染細胞など）を認識した場合には、活性化シグナルを細胞内に伝達する³⁾。その結果、非自己と見なされた細胞は、これらを標的とするNK細胞から放出される細胞質顆粒（パーフォリン、グランザイムなど）により殺傷される。先行研究においては、尿毒症物質・酸化ストレスの蓄積した透析歴1年以上の維持透析患者を健常コントロールと比較すると、NK細胞による殺傷能力が低下していることが明らかにされた⁴⁾。

維持血液透析患者は、ウイルス感染の発症率や重症化率が高い⁵⁾。また、透析療法は医療者や他の患者との接触が不可避であるため、施設内や地域内で感染拡大しやすく、致死経過をとる場合があり注意を要する。近年、世界的問題であるウイルス感染症は一般的に、自然免疫と獲得免疫の両者により体内から排除される。後者は抗原特異的な反応であるため、原則的には新興感染症や流行性感染症には効果せず、主として自然免疫がそれらの感染制御に重要な役を担う。また、ワクチンの開発や普及は必ずしもウイルス流行に間に合うものではない。したがって、透析患者の自然免疫機構を適切に保ち、流行性ウイルスがヒトに侵入して

感染が成立してからのウイルス量を減らし、重症化を予防する方法を探索することが本研究の目的となる。そのため、ウイルス排除に中心的な役割を担う、ナチュラルキラー（NK）細胞に着目した。また、透析患者において身体活動度も予後に与える因子として重要であり、筋力や心肺機能に関連して生命予後や生活の質（QOL）に影響する。そこで我々は、身体活動度が、NK細胞機能と関連するかを検証した。さらに同一の症例群で、NK細胞機能を秋期（9月）と冬期（12月）で比較することで、ヒトの免疫機能の季節性による変化について検討した。

2 研究方法

本研究は、日立総合病院自主臨床研究「透析患者におけるNK細胞の機能解析」（#2021-79）の研究計画に基づき行われた。日立総合病院の維持血液透析患者のうち半年以上の維持透析歴があり、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）が陰性で、身体活動度の定期検査が実施されている49例が対象となり、同意を得て血液を採取し、NK細胞活性が解析された。NK細胞機能の経時的な変化を確認するため、2022年9月と12月の週初めの透析前定期採血（月または火曜日）に研究用採

血10 mLを各例に追加した。採取されたサンプルは同日のうちに株式会社BMLに外注検査として依頼し、NK細胞障害活性（Cr⁵¹遊離法）が測定された。

採血時点における背景因子：年齢、性別、身長、体重、Body mass index、身体活動度（握力、4 m 歩行テスト、5 回立ち座りテスト）、糖尿病の有無、肝炎ウイルス感染（HBs抗原およびHCV抗体の陽性と陰性で感染を定義）、腎不全の原疾患の情報を収集した。

採血評価項目：透析効率（血清Cre値）、炎症（血清CRP値）を収集した。

統計解析にはGraphpad Prism version 6（GraphPad Software Inc., San Diego, CA）を用い、2群間の比較にはMan-Whitney testもしくはWilcoxon signed-rank testを用い、相関解析にはSpearman correlation testを用いた。

3 研究結果

表1に登録時（2022年9月）における研究対象患者の医学的特徴および身体活動度を示した。当院の維持血液透析49例（女性17例、男性32例）の年齢中央値71歳（四分位62～76歳）であった¹⁾。透析歴は中央値6.5年（5.3～8.3年）であり、糖尿病の有病率

表1 対象患者の医学的特徴および身体活動度

	N = 49
Sex, Women/Men	17/32
Age, median year (IQR)	71 (62-76)
Dialysis vintage, median year (IQR)	6.5 (5.3-8.3)
Diabetes, Yes/No	26/23
Cause of renal disease, number (%)	
Chronic glomerulonephritis	14 (28.6)
Diabetic kidney disease	22 (44.9)
Hypertension	3 (6.1)
Polycystic kidney disease	3 (6.1)
Othres	7 (14.3)
Serum Cre, median mg/dL (IQR)	10.7 (9.1-11.9)
Serum CRP, median mg/dL (IQR)	0.20 (0.07-0.41)
HBV antigen, Positive/Negative	1/48
HCV antibody, Positive/Negative	3/46
Height, median cm (IQR)	163.0 (156.1-169.0)
Weight, median kg (IQR)	58.4 (49.3-68.1)
Body mass index, mean kg/m ² (IQR)	22.3 (19.8-25.0)
Grip power, median kg (IQR)	27.6 (19.2-33.0)
4m gait test, median sec (IQR)	2.9 (2.7-3.2)
FTSST, median sec (IQR)	6.5 (5.5-8.3)

Abbreviations :

IQR, interquartile range; CRP, C-reactive protein; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; FTSST, five times sit-to-stand test

(著者作成)

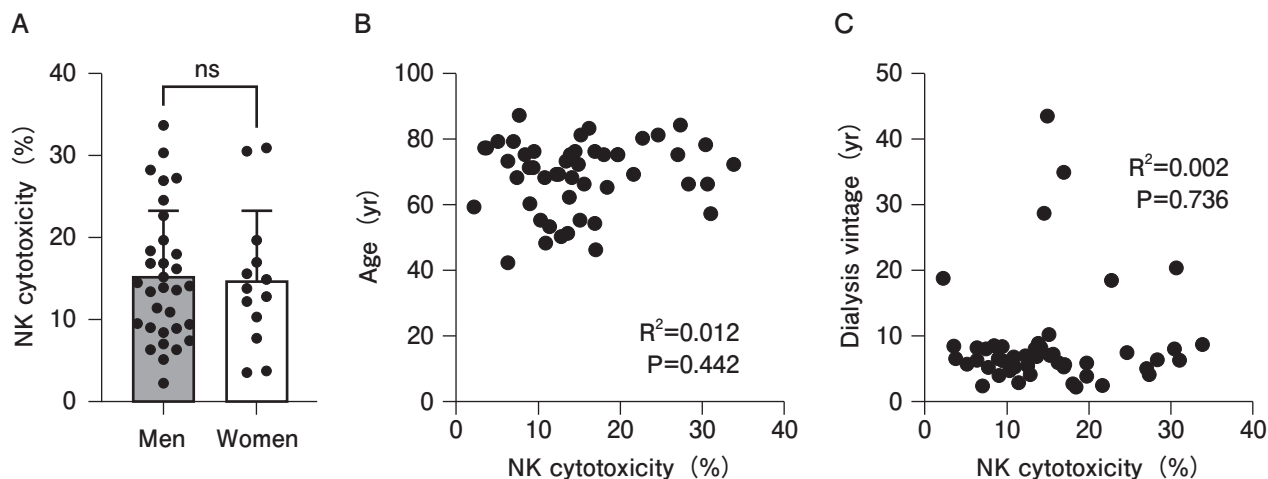


図1 NK細胞活性と性別、年齢、透析歴の関係

血液透析患者49例の登録時（9月）のNK細胞活性の男女別の中央値（A）、NK細胞活性と年齢との相関解析（B）、およびBody mass indexとの相関解析（C）の結果を示す。（著者作成）

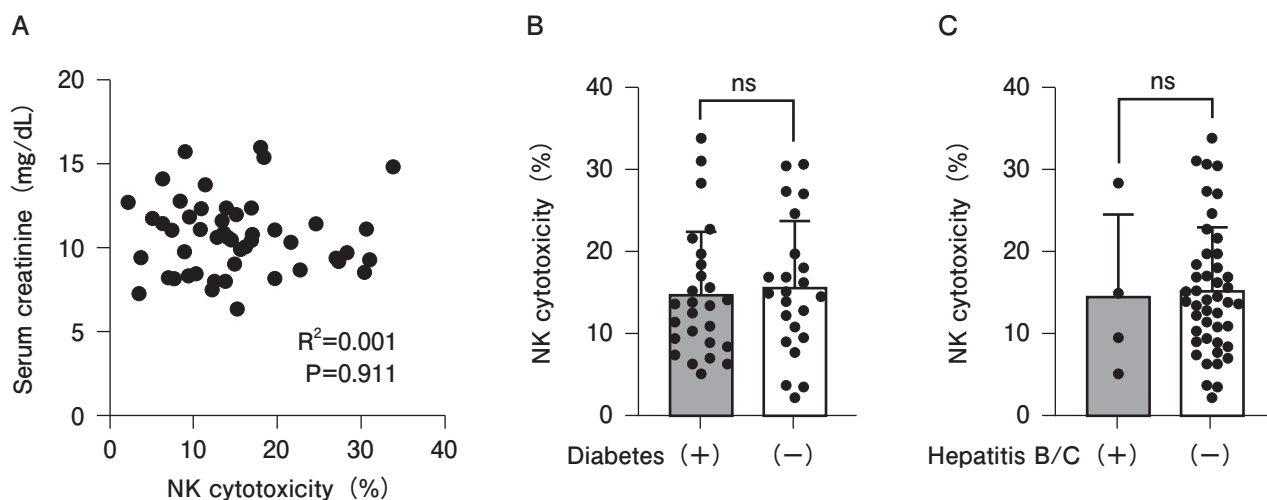


図2 NK細胞活性と疾患背景との関係

血液透析患者49例の登録時（9月）のNK細胞活性と血清クレアチニンとの相関解析（A）、糖尿病有無によるNK細胞活性の中央値の比較（B）、および肝炎ウイルス感染検査陽性の有無によるNK細胞活性の中央値の比較（C）の結果を示す。（著者作成）

は53.1%であり、腎不全の原疾患は糖尿病性腎臓病44.9%、次いで慢性糸球体腎炎28.6%であった。Body mass indexは、中央値22.3 kg/m²（19.8～25.0 kg/m²）であった。握力は左右上肢で結果の良い側を最大握力として採用し、その中央値は27.6 kg（19.2～33.0 kg）、4 m歩行テストは中央値2.9秒（2.7～3.2秒）、立ち座りテストの中央値は6.5秒（5.5～8.3秒）であった。

9月（登録開始時）のNK細胞活性（エフェクター/ターゲット比10:1）は、中央値13.9%（9.4～18.4%）であった。49例においてNK細胞活性（%）について

患者背景や身体活動における群間比較および相関分析を実施した。それぞれの統計値は、性別（男性 vs 女性：14.0±0.2% vs 13.8±0.3%、P=0.955、図1A）、年齢（R²=0.012、P=0.442、図1B）、透析歴（R²=0.002、P=0.736、図1C）、血清クレアチニン（R²=0.001、P=0.911、図2A）、糖尿病（あり vs なし：13.5±1.4% vs 14.9±1.3%、P=0.602、図2B）、肝炎ウイルス（HBs抗原陽性あるいはHCV抗体陽性 vs いずれも陰性：12.2±1.7% vs 13.9±1.6%、P=0.760、図2C）、Body mass index（R²=0.054、P=0.127、図3A）、最大握力（R²=0.013、P=0.469、図3B）、4 m歩行テス

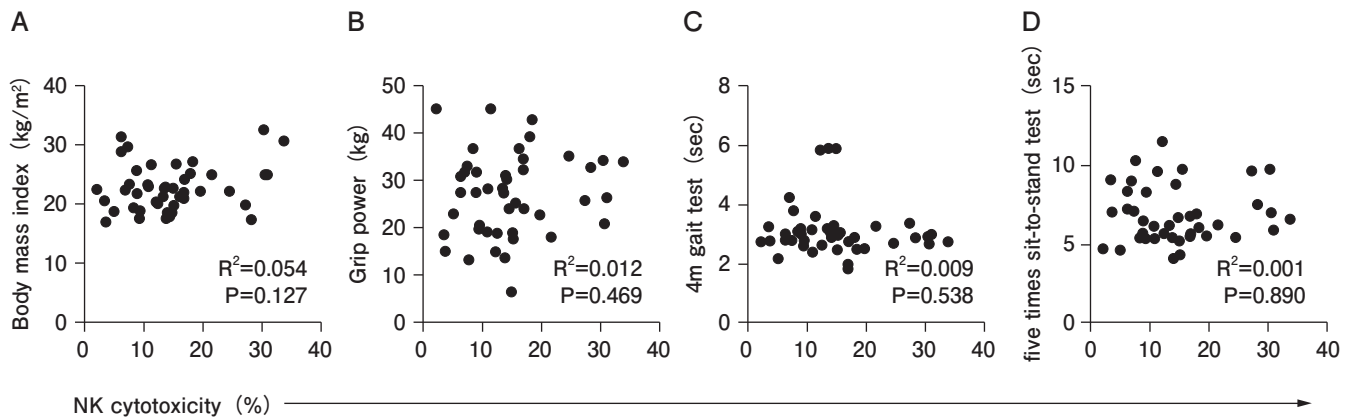


図3 NK細胞活性と透析患者の身体的特徴との関係

血液透析患者 49 例の登録時 (9 月) の NK 細胞活性と Body mass index との相関解析 (A), 握力との相関解析 (B), 4 m 歩行テストとの相関解析 (C), 立ち座りテスト (D) との相関解析の結果を示す。
(著者作成)

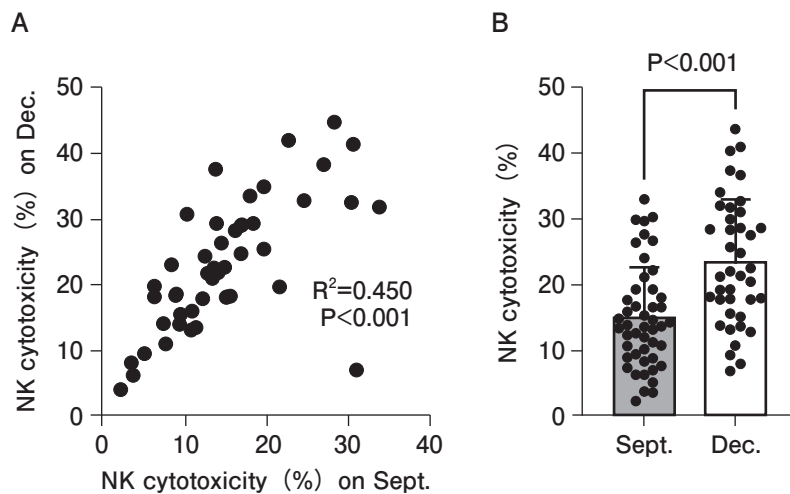


図4 維持血液透析患者におけるNK細胞活性の経時的な検討

1 回目 (9 月) と 2 回目 (12 月) の研究期間中の 2 例の死亡を除く, 47 人の NK 細胞活性の相関解析の結果, および 9 月と 12 月の NK 細胞活性の中央値の比較。
(著者作成)

ト ($R^2=0.054$, $P=0.127$, 図 3C), 立ち座りテスト ($R^2=0.001$, $P=0.890$, 図 3D) であり, いずれも有意な関係性を見いだせなかった。

12 月の再測定までに, 心血管合併症による死亡が 2 症例の脱落があった。一方, コロナウイルスあるいはインフルエンザウイルスの入院症例および死亡例はなかった。死亡例を除く 47 例の NK 細胞活性は, 中央値 21.8% (16.9~29.3%) であった。9 月と 12 月の測定値は, Slope 0.862 (95% confidence interval 0.576~1.150), $R^2=0.45$, $P<0.001$ であり, 有意な相関関係があった (図 4A)。また, 9 月と 12 月の NK 細胞活性の中央値を比較すると, 12 月の NK 細胞活性が有意に高かった ($P<0.001$, 図 4B)。

4 考 察

当院の維持血液透析 49 例の年齢中央値は 71 歳 (四分位 62~76 歳) であり, 日本の透析人口の平均年齢 69 歳より若干高齢であるが, ほぼ同様と考えられる¹⁾。維持透析中の慢性腎不全患者の原疾患についても, 日本全体の 2019 年の統計で糖尿病性腎症 (39.1%), 慢性糸球体腎炎 (25.7%), 腎硬化症 (11.4%) と続く順位は本研究対象者のそれと同様である。他方, 当院は地域の 3 次救急を担う中核病院であり, 送迎サービスや療養型病棟は併設されておらず, 自力で通院可能な患者のみを外来維持血液透析で受け入れている。患者登録時 (9 月) の NK 細胞活性と身体活動度との相関

分析においては、比較的身体活動が良好な集団が当院に通院していた可能性があり、選択バイアスが働くことで、握力、歩行テスト、立ち座りテストの結果がやや均質であったことは否定できない。また、本研究で採用した握力、4 m 歩行、5 回立ち座りの身体活動度と、同じ比較可能な外部データを入手することは困難であったが、日本の外来通院する 670 例の維持血液透析患者の身体機能についての報告がある⁶⁾。平均年齢 69.6 歳 (標準偏差 ± 10 歳) で、平均握力が 24.2 kg (± 8.6 kg)、4 m 歩行平均時間が 2.9 秒であった。従って、外来通院が不可能なフレイルの症例との比較はできないが、少なくとも外来通院可能な維持血液透析患者としておおむね外部データと同様の観察対象者が当院で得られたと考えられる。

これらの対象症例の特性を踏まえ、NK 細胞と医学的パラメータ、身体的パラメータとの関係を検討した。年齢、性別、透析歴と NK 細胞活性について有意な相関関係は認めなかった。透析歴における先行研究は乏しいが、年齢⁷⁾と性別⁸⁾に関する NK 細胞活性については知られている。ただし、これらの知見は慢性腎不全や維持血液透析されていない集団である。したがって、例えば、慢性腎不全あるいは維持血液透析に関連する酸化ストレスが強く NK 細胞機能低下をもたらす⁵⁾などの、年齢や性別による影響をキャンセルした因子の存在は否定できない。

次に、透析効率や残腎機能を示す代表としての血清 Cre との相関を検討したが、これにも有意差がなかった。今回の解析項目に含まない他の尿毒症物質や酸化ストレスマーカーとの関連について検証することが望まれる。また、糖尿病は NK 細胞活性を減弱させる可能性があるものの⁹⁾、維持血液透析患者の糖尿病については、本研究の結果から NK 細胞活性との関連は否定的であった。肝炎ウイルスは、肝障害を来す場合 NK 細胞活性が上昇することが知られている^{10, 11)}、本研究対象は HBs 抗原陽性が 1 人、HCV 抗体陽性が 3 人であり、いずれも活動性はなく活性化に影響がなかったことが示唆される。

慢性腎不全患者の身体活動度は低く、日常の身体活動や運動習慣が良好でなく、また、それらは Quality of Life、運動能力低下、慢性疼痛にも関連している^{12, 13)}。さらに、それは生命予後に関係することも明らかにされている¹⁴⁾。したがって、維持血液透析患者における

身体活動度の保持は極めて重要である。近年、ブラジルの施設より 9 症例の小規模な介入試験であるが、血液透析中の運動療法により NK 細胞の機能が改善されることも示された¹⁵⁾。しかしながら、本研究においては、登録時の身体活動度との関連を示すことはできなかった。本研究は非介入試験であるため、今後の NK 細胞機能の変化の解析を追加することは困難であり、今後、当施設でも運動介入をすることで NK 細胞機能が変化するかを検証研究を予定している。

NK 細胞の概年リズムについては、古くは若年健常者 5 人のサンプルを用いた解析が行われたことがある。ただし、NK 細胞の表面マーカー (HNK1) 陽性で定義された細胞数は、春 (3 月)・夏 (6 月) に比較すると冬 (11 月) は約 1.5 倍に上昇していた¹⁶⁾。以来、研究報告として NK 細胞数の季節性を示すものはあるが¹⁷⁾、ヒト NK 細胞機能の季節性を示す研究結果はなかった。本研究では、秋季 (9 月) と冬季 (12 月) を比較すると、冬季で NK 細胞活性が約 1.5 倍に増加していた。9 月分と 12 月分の NK 細胞活性測定は同時に実施できないため、測定系の不均一が経時的変化に影響していた可能性もある。しかしながら、透析患者において NK 細胞機能が経時的に変化する、例えば、気候や感染症の流行期などに影響されることを示唆する貴重な結果が得られた。

Covid-19 に限らず、流行性感染症の重症化を予防することは医療崩壊を防ぎ、患者の生活の質を担保するのに必要なことである。先行研究から透析中の運動が NK 細胞機能の改善による自然免疫の保持に寄与する場合、非薬物治療としての臨床的インパクトは大きい。また社会的成果としても、内服や注射薬の使用が極めて多い透析患者において、ウイルス感染症により付加される医療費の抑制が期待される。今後も維持血液透析患者の流行性ウイルス感染症の重症化の抑制を目指して、NK 細胞機能に着目した研究が望まれる。

結 論

本研究では、身体活動度と NK 細胞機能の関連を検証したが、有意な結果を見いだすことができなかった。今後は、身体活動度を介入で変化させた結果として、NK 細胞機能が変化するかを検証する必要がある。また、秋季 (9 月) と冬季 (12 月) を比較すると、冬季で NK 細胞活性が約 1.5 倍に増加しており、季節や感

染症の流行期などに影響される経時的な変化が示唆され、検証研究が望まれる。

この研究は令和2年度日本透析医会の研究助成(JADP Grant 2020-3)により実施された。

利益相反自己申告：

著者は株式会社日立製作所の資金援助による社会連携教育研究センター（寄付講座）に所属している。

文 献

- 1) 新田孝作, 政金生人, 花房規男, 他 : わが国の慢性透析療法の実況 (2019年12月31日現在), 透析会誌 2020; 53(12) : 579-632.
- 2) Steiger S, Rossaint J, Zarbock A, et al. : Secondary Immuno-deficiency Related to Kidney Disease (SIDKD)-Definition, Unmet Need, and Mechanisms. J Am Soc Nephrol 2022; 33(2) : 259-278.
- 3) Arase H, Mocarski ES, Campbell AE, et al. : Direct recognition of cytomegalovirus by activating and inhibitory NK cell receptors. Science 2002; 296 : 1323-1326.
- 4) Peraldi MN, Berrou J, Dulphy N, et al. : Oxidative stress mediates a reduced expression of the activating receptor NKG2D in NK cells from end-stage renal disease patients. J Immunol 2009; 182 : 1696-1705.
- 5) Cancarevic I, Nassar M, Daoud A, et al. : Mortality rate of COVID-19 infection in end stage kidney disease patients on maintenance hemodialysis : A systematic review and meta-analysis. World J Virol 2022; 11(5) : 352-361.
- 6) 原 采花, 河野健一, 大下裕世, 他 : 維持血液透析患者の栄養状態と身体機能の性別と年代別にみた代表値, 理学療法学 2020; 47(3) : 207-214.
- 7) Almeida-Oliveira A, Smith-Carvalho M, Porto LC, et al. : Age-related changes in natural killer cell receptors from childhood through old age. Hum Immunol 2011; 72(4) : 319-329.
- 8) Menees KB, Earls RH, Chung J, et al. : Sex- and age-dependent alterations of splenic immune cell profile and NK cell phenotypes and function in C57BL/6J mice. Immun Ageing 2021; 18(1) : 3.
- 9) Yoon Kim D, Kwon Lee J : Type 1 and 2 diabetes are associated with reduced natural killer cell cytotoxicity. Cell Immunol 2022; 379 : 104578.
- 10) Wang J, Hou H, Mao L, et al. : TIGIT Signaling Pathway Regulates Natural Killer Cell Function in Chronic Hepatitis B Virus Infection. Front Med (Lausanne) 2022; 8 : 816474.
- 11) Adenugba A, Hornung M, Weigand K, et al. : Ribavirin Improves NK Cell IFN γ Response During Sofosbuvir-based DAA Therapy in HCV-infected Liver Transplant Recipients. Transplantation 2021; 105(10) : 2226-2238.
- 12) Huang M, Lv A, Wang J, et al. : Exercise Training and Outcomes in Hemodialysis Patients : Systematic Review and Meta-Analysis. Am J Nephrol 2019; 50(4) : 240-254.
- 13) Tarca BD, Wycherley TP, Bennett P, et al. : Modifiable Physical Factors Associated With Physical Functioning for Patients Receiving Dialysis : A Systematic Review. J Phys Act Health 2020; 17(4) : 475-489.
- 14) Tentori F, Elder SJ, Thumma J, et al. : Physical exercise among participants in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS) : correlates and associated outcomes. Nephrol Dial Transplant 2010; 25(9) : 3050-3062.
- 15) Fuhro MI, Dorneles GP, Andrade FP, et al. : Acute exercise during hemodialysis prevents the decrease in natural killer cells in patients with chronic kidney disease : a pilot study. Int Urol Nephrol 2018; 50(3) : 527-534.
- 16) Lévi FA, Canon C, Tuitou Y, et al. : Seasonal modulation of the circadian time structure of circulating T and natural killer lymphocyte subsets from healthy subjects. J Clin Invest 1988; 81(2) : 407-413.
- 17) Afoke AO, Eeg-Olofsson O, Hed J, et al. : Seasonal variation and sex differences of circulating macrophages, immunoglobulins and lymphocytes in healthy school children. Scand J Immunol 1993; 37(2) : 209-215.