

2024年10月24日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学
学校法人昭和大学

遺伝性腎疾患の病理診断に AI を活用する新たな手法を開発

遺伝性腎疾患アルポート症候群のモデルマウスを用いて、糸球体基底膜の病変を可視化する新たなイメージング技術を開発しました。その病理画像データを AI に深層学習させることにより、病変の自動検出が可能となりました。

アルポート症候群は、腎臓機能障害、感音性難聴、眼球異常を伴う遺伝性疾患です。腎臓では、初期には血尿、次第にタンパク尿が出て、ついには末期腎不全となり、透析や腎臓移植などの腎代替療法が必要になります。

アルポート症候群の正確な有病率は不明ですが、X連鎖性の遺伝形式（X染色体上の遺伝子の変異により発症する）が最多で、X染色体が一つである男性（XY染色体）の方が、X染色体を二つ持つ女性（XX染色体）よりも重症となります。一方、男性よりも軽症とされる女性のX連鎖性患者ですが、米国や我が国の臨床研究により、全体の15%程度が40歳までに末期腎不全に至ることが報告されています。アルポート症候群の診断には、遺伝子解析と腎臓組織の病理診断が必要ですが、女性患者では腎予後の予測が難しく、予後を改善するとされる降圧剤などの腎臓保護的な治療介入の是非を判断するための指標が求められています。

本研究グループは、アルポート症候群を模倣するモデルマウスを用い、オスとメスの比較や、メスの腎臓病変の詳細について調べ、メスに特徴的である、IV型コラーゲンが保存された領域と欠損した領域の基底膜病変を観察する手法を開発しました。さらに、その病変を AI に深層学習させて自動検出することに成功しました。AI が診断したメスマウスの腎臓病変の定量値は、タンパク尿濃度と正の相関関係を示したことから、本手法が、女性のアルポート症候群患者の腎臓機能の予後予測に有用であると期待されます。

研究代表者

筑波大学医学医療系

川西 邦夫 助教（研究当時、現：昭和大学医学部解剖学講座顕微解剖学部門 准教授）

研究の背景

アルポート症候群は、南アフリカの医師であったアーサー・セシル・アルポート (Arthur Cecil Alport) による家族性腎炎家系の報告に基づいて、その病名が付けられました。アルポート症候群の正確な有病率は不明ですが、米国では小児および成人の末期腎不全症例のそれぞれ約 2.2% および 0.2% を、ヨーロッパでは末期腎不全症例の 0.6% を占めると報告されています。腎臓が尿をつくる過程で重要な役割を果たす糸球体基底膜の構成成分の一つに、IV 型コラーゲン^{注1)} があります。アルポート症候群の原因の 85% は、IV 型コラーゲンの $\alpha 5$ 鎖をコードする遺伝子 *COL4A5* が変異する X 染色体連鎖型遺伝型^{注2)} です。他に、*COL4A3* または *COL4A4* の変異をきたす常染色体潜性 (劣性) 遺伝型 (10~15%) と常染色体顕性 (優性) 遺伝型 (5% 程度) があります。X 連鎖性アルポート症候群の男性は、小児期早期から血尿を示し、その後アルブミン尿、重度の蛋白尿を経て、40 歳までに末期腎不全に至ります。感音性難聴や、内斜視、斑状網膜、角膜病変などの眼球異常も多く、これらの症状は小児期後半から成人期前半に現れます。一方、女性患者の約 15% が 40 歳までに末期腎不全になるという事実が米国や我が国の臨床研究により明らかになりましたが、遺伝子診断や病理診断などでアルポート症候群が判明しても、予後予測するためのバイオマーカーなどは未確立です。女性患者の腎予後を予測する指標があれば、腎臓を保護する降圧剤などの早期介入などを行う上で有効な手法となります。

研究内容と成果

本研究では、ヒトアルポート症候群の *COL4A5* 遺伝子のナンセンス変異 (R471*)^{注3)} を有し、その病態を模倣するモデルマウス (AXCC マウス: Axceed 社製) を用い、オスとメスの腎障害の比較を行いました。その結果、メスはオスに比べて個体差が大きく、腎障害をほとんど示さない個体から、オス並みに腎障害を示す個体までさまざまであることが分かりました。病理学的には、女性患者と同様、正常な糸球体基底膜に発現する *COL4A5* が保たれている部分と欠失する部分とがモザイク上になることを確認しました。

本研究グループは、これまでに、糸球体基底膜を観察するための特殊染色である過ヨウ素酸メセナミン銀 (Periodic Acid-Methenamine silver, PAM) 染色^{注4)} を改良した染色法を開発しており、メスマウスの腎臓の組織に *COL4A5* に対する蛍光免疫染色の画像データを取得した後、この改良型 PAM 染色を加えて、低真空走査型電子顕微鏡 (LVSEM)^{注5)} による観察を行いました。その結果、*COL4A5* の保存されている糸球体基底膜は正常と同様に緻密な構造を認めましたが、欠失している糸球体基底膜は粗となりました (Basket weave 病変)。改良型 PAM 染色法で光学顕微鏡と LVSEM による画像データを比較すると、光学顕微鏡画像上でも Basket weave 病変が可視化されていることが分かりました。そこで、通常の病理診断によく用いられる、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) を施した腎組織に対して改良型 PAM 染色を行い、その染色スライドをデジタル化 (whole slide image^{注6)}) して、病理画像解析 AI ソフトの一つである Halo AI (Indica Labs 社製) に深層学習をさせたところ、Basket weave 病変を自動検出することができました。AI が算出した Basket weave 病変のスコアは、それぞれの個体の蛋白尿濃度と有意な正の相関を示しました。これらの結果から、本手法が、糸球体基底膜病変を定量的に評価する新しい AI 病理診断サポート技術として有効である可能性が示されました (参考図)。

今後の展開

本研究では、同じ切片に対し、光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、電子顕微鏡による異なる画像データを取得するシングルスライドイメージ法と、糸球体基底膜病変の可視化を改善した改良型 PAM 染色法を組み合わせ

せて、AI の深層学習に有用な画像データを構築しました。この手法は、アルポート症候群の病理解析だけでなく、他の腎臓病の解析や診断などへの適用も期待されます。

参考図

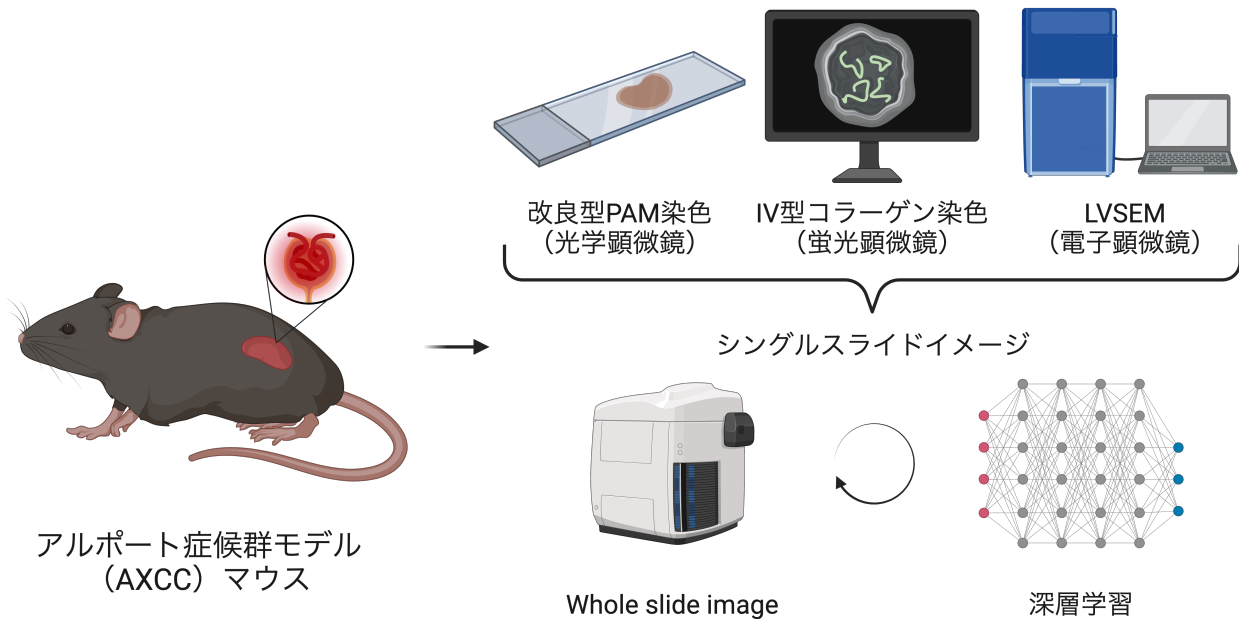


図 改良型 PAM 染色とシングルスライドイメージ法による AI 病理診断法

ヒトアルポート症候群モデルマウス (AXCC) のメスの腎臓病変を可視化するため、改良型 PAM 染色による光学顕微鏡の画像データ、IV 型コラーゲン $\alpha 5$ と $\alpha 2$ の蛍光免疫染色による画像データ、および低真空走査型電子顕微鏡 (LVSEM) による画像データを、同じ 1 枚の切片中の同一糸球体から取得するシングルスライドイメージ法を確立した。これにより、IV 型コラーゲンが正常に保たれた基底膜と、IV 型コラーゲン異常がある基底膜、それぞれの微細構造を比較することが可能となり、本手法が病変を自動検出する上で有用であることが示された。これらのデータを whole slide image として AI に深層学習させ、病変の自動検出に成功した (Created in BioRender. Kawanishi, K. (2024) BioRender.com/d82p159)。

用語解説

注 1) IV 型コラーゲン

細胞外マトリックスを形成するコラーゲンのうち、IV 型コラーゲンは基底膜 (肌の表皮と真皮の間にあるシート状構造) に豊富に存在する。三重らせん状の領域、非コラーゲン領域で構成され、重合して網目状構造を形成する。

注 2) X 連鎖性遺伝疾患

性染色体である X 染色体上にある遺伝子の異常による疾患。X 連鎖劣性 (潜性) 遺伝と X 連鎖優性 (顕性) があり、前者の場合、女性は保因者として症状が出ることはまれである。アルポート症候群は後者の遺伝形式を示す。

注 3) ナンセンス変異

タンパク質の設計図である遺伝子配列のうち、1 塩基が変化すること。これによりタンパク質の合成がその部分で止まってしまい (終止コドン)、タンパク質はその機能を失う。R471*とは、471 番目のアミノ酸配列が、野生型ではアルギニン (Arg または一文字で R と表記) であるはずのものが、終止コドンとなる変異を表す。

注4) 過ヨウ素酸メセナミン銀 (Periodic Acid-Methenamine silver, PAM) 染色

糸球体基底膜の病変を可視化する手法で、主に腎病理診断で用いられる。本研究で用いた改良型 PAM 染色は、接線方向の糸球体基底膜病変の観察に適している。(特願 2024-154098、発明者：筑波大学 川西邦夫、馬場正樹、https://www.osi.tsukuba.ac.jp/seeker_interview/kawanishi/)

注5) 低真空走査型電子顕微鏡 (LVSEM)

走査型電子顕微鏡観察を、通常よりも低真空で行う装置。細胞や組織切片などの観察を、特別な固定処置なしで行うことができる。

注6) Whole slide image

スライドスキャナーにより、病理組織標本を連続的に丸ごとデジタル化したイメージデータ。顕微鏡像を見ているかのようにデバイス上で拡大や縮小ができるため、バーチャルスライドとも呼ばれる。AI による病理画像解析の研究分野で広く用いられるデータ形式である。

研究資金

本研究は、科学技術振興機構報 (JST) 筑波大学 START 大学推進型 (「つばさ」事業：JPMJST2052)、筑波大学「幸多き人生 100 年時代を創る「知」活用プログラム」、および、一部、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED：JP23wm0325066) の支援を受けて行われました。また本研究は、筑波大学と Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社との成果有体物提供契約に基づいて実施された他、AI によるデータ解析に関して同社より無償で技術提供を受けました。

掲載論文

【題名】 A novel deep learning approach for analyzing glomerular basement membrane lesions in a mouse model of X-linked Alport syndrome

(深層学習による X 染色体連鎖性アルポート症候群モデルマウスにおける糸球体基底膜病変の解析法の開発)

【著者名】 Kunio Kawanishi¹, Masaki Baba², Ryosuke Kobayashi³, Ryotaro Hori³, Kentaro Hashikami³, Kenta Danbayashi³, Takako Iwachido³, Mitsuyasu Kato¹

¹筑波大学 医学医療系 実験病理学

²筑波大学 医学医療系 診断病理学

³Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社

【掲載誌】 *American Journal of Pathology*

【掲載日】 2024 年 10 月 17 日

【DOI】 10.1016/j.ajpath.2024.10.004

問い合わせ先

【研究に関すること】

川西 邦夫 (かわにし くにお)

昭和大学 准教授 (兼 筑波大学非常勤研究員)

URL: <https://www.md.tsukuba.ac.jp/epatho/index.html>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp

昭和大学 総務部総務課 大学広報係

TEL: 03-3784-8059

E-mail: press@ofc.showa-u.ac.jp