

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：久道 三佳子

専攻分野：内科学

コース：腎臓・高血圧内科

指導教授：柴垣有吾

主論文の題目：

Increase in Urinary Markers During the Acute Phase Reflects the Degree of Chronic Tubulointerstitial Injury After Ischemia-Reperfusion Renal Injury

(AKI急性期尿中バイオマーカーは虚血再灌流後慢性期の尿細管間質障害の程度を反映する)

共著者：Atsuko Kamijo-Ikemori, Takeshi Sugaya, Daisuke Ichikawa, Seiko Hoshino, Kazuaki Hirata, Kenjiro Kimura, Yugo Shibagaki

緒言

急性腎障害 (AKI) は、尿細管間質障害を引き起こし、慢性腎臓病 (CKD) の新規発症および増悪に有意に関連する事が複数報告されている。そのため、AKI 急性期に CKD 発症および腎予後を予測するバイオマーカーは重要である。尿 Liver type fatty acid binding protein (L-FABP) は、尿細管障害マーカーとして保険収載されたマーカーであり、従来のマーカーでは、検出できない腎病態を詳細に反映する。本研究では、AKI 急性期の尿 L-FABP を含む様々な尿バイオマーカーが、慢性期の尿細管間質線維化の程度を反映することを、AKI 重症度の異なるマウス虚血再灌流 (Ischemia-Reperfusion: I/R) モデルを用いて検討した。

方法・対象

野生型マウスの腎臓には、L-FABP が発現していないため、ヒト L-FABP

染色体遺伝子導入 (Tg) マウスを使用した。虚血時間を 20 分 (20 分虚血群) または 30 分 (30 分虚血群) と変えて左腎動静脈茎をクランプし、AKI 重症度が異なるモデルを作成した。クランプ除去直後に右腎は摘出し、片腎とした。その後、翌日まで蓄尿を行った (I/R 1 日後)。左腎臓は、I/R 1 日後 (急性期障害の評価)、40 日後 (慢性期障害の評価) に摘出した。尿マーカーとしては、尿 L-FABP, 尿アルブミン (Alb), 尿 Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) ・ 尿 Kidney Injury Molecule-1 (Kim-1) を測定した。なお、本研究は動物実験委員会の承認を得て施行した (遺伝子組み換え動物実験計画書承認番号: TG150527-4)。多群間の比較は one way ANOVA で解析後 Mann-Whitney U 検定を、2 変量の相関は Spearman の順位相関係数を用いた。

結果

I/R モデルは AKI の病態解明のために確立されたモデルである。急性期 (I/R 1 日後) の腎 heme oxidase-1 (HO-1)、hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1)、monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)、interleukin-18 (IL-18)、connective tissue growth factor (CTGF) 遺伝子発現、血清クレアチニン、尿 L-FABP 排泄、組織 PAS 染色による急性期尿細管間質障害は、30 分虚血群において、20 分虚血群よりも有意に上昇し ($p < 0.05$)、AKI 重症度が異なるモデルを作成しえた。慢性期 (I/R 40 日後) の腎 MCP-1 遺伝子、collagen type I 遺伝子発現の程度は、30 分虚血群で 20 分虚血群より有意に上昇し ($p < 0.05$)、また腎機能低下も 30 分虚血群で認められた。慢性期の尿細管間質線維化 (マッソン染色)、collagen type I ・ type III 免疫染色は、20 分虚血群と比較し、30 分虚血群でより強く観察された ($p < 0.05$)。尿 L-FABP ・ 尿 Alb ・ 尿 NGAL ・ 尿 Kim-1 は、I/R 前より I/R 1 日後において有意に増加し ($p < 0.05$)、その値は、30 分虚血群で、20 分虚血群より有意に高値であった ($p < 0.05$)。急性期の尿 L-FABP をはじめとする尿バイオマーカーの値は、慢性期の

尿細管間質線維化の程度と有意に強く相関した ($p < 0.05$)。

考察

急性期に HIF-1, HO-1 といった虚血や I/R で誘導される遺伝子、MCP-1, IL-18 といった炎症性サイトカイン遺伝子、CTGF 遺伝子といった線維化誘導遺伝子の発現が、20 分虚血群と比較して、30 分虚血群で有意に増加していることから、I/R によって生じた低酸素・酸化ストレスが、急性期腎障害を惹起し、慢性期の腎線維化に寄与していること、および AKI 重症度が強い程、慢性期の尿細管間質線維化が強くなることを確認した。AKI 急性期尿中 L-FABP、尿中 Alb、尿中 NGAL、尿中 Kim-1 は、AKI 後慢性期の尿細管間質線維化の程度と相関したことより、これらのバイオマーカーは、AKI 重症度だけでなく、AKI 後の CKD 進展度も反映すると考えられる。

尿 L-FABP に関しては、臨床研究において造影剤投与後の急性期尿 L-FABP 上昇が、投与 1 年後の腎機能低下と相関したと報告がある。本研究は、その研究結果を基礎的研究により支持していると考えられる。

尿中 NGAL・尿中 Kim-1 は、AKI の早期診断における有用性が報告されている前臨床段階にある尿マーカーである。本研究では、これらのマーカーも慢性期の尿細管間質線維化の程度を反映することが示された。

尿 Alb は、従来糸球体障害マーカーとして知られているが、最近 AKI 診断における重要性も報告されている。本研究でも、尿 Alb が AKI 重症度および AKI 後の慢性期尿細管間質障害予測に有用である可能性が示された。

本研究は、急性期の尿バイオマーカーが、慢性期 CKD へ進展する高危険群の患者を判別できる可能性を基礎的研究により明らかにした。今後は、血清クレアチニンに対する優位性、バイオマーカーのパネル化にともなう診断精度の向上、AKI 後の CKD 進展を判別するカットオフ値の設

定について、臨床研究で検討する必要がある。

結論

AKI の重症度は、慢性期の尿細管間質線維化の程度と相関し、AKI 急性期の尿 L-FABP をはじめとした尿中バイオマーカーは、慢性期の尿細管間質線維化の程度を反映することが示された。