トピックス

Ⅲ. 診断へのアプローチ

2. 検尿所見・バイオマーカー

上條-池森敦子¹⁾ 2) 木村健二郎¹⁾

要 旨

AKIの早期診断・早期介入は、その後の患者予後を左右するため、大変重要である。血清クレアチニンと
いった従来のバイオマーカーでは、早期の検出力が不十分のため、採取が容易な尿バイオマーカーの探索
が精力的に行われてきた。その結果、2011年に保険収載された尿中L-FABPは、日本発のバイオマーカーと
して注目されている。CKDのみならず、AKIの早期診断に尿中L-FABPは大変有用である。

〔日内会誌 103：1068～1073, 2014〕

Key words AKI, 尿沈渣, 尿中L-FABP, バイオマーカー

Acute kidney injury (AKI) は、ICUの入院患者や心血管手術を受けた患者で頻繁に生じる合併症の一つで、致死率の増加とも関係する。また、腎代替療法を必要としたAKIを発症した患者は、その後chronic kidney disease (CKD) へ意向する事も報告されており¹⁾、AKIの早期診断・早期介入は、大変重要である。

従来のAKI治療は、血清クレアチニン(Cr)が上昇して初めて開始されていた。Crの上昇は、糸球体ろ過量が減少し、Crが体内に蓄積した結果生じるため、Crの上昇を待ってからの診断では、治療すべきタイミングを逸している事が多い²⁾。そのため、採取が容易な尿検体を使用した新しいバイオマーカーの探索が世界的に行われてきた。

L型脂肪酸結合蛋白 (L-type Fatty Acid Binding Protein : L-FABP) は、尿細管機能障害を反

映するバイオマーカーとして、2011年8月に保険収載された日本発のバイオマーカーである(図1)。AKIの早期診断に有用である事が、多くの臨床研究で明らかにされている。

AKIの早期診断の次には、AKIの発症原因を明らかにする必要がある。従来の尿沈渣や尿蛋白、尿中Na排泄率(FENa)、尿中尿素排泄率(FEu_{rea})などは、腎前性、腎性、腎後性のAKI原因疾患の鑑別に有用である。

1. 体外診断薬として承認され保険収載された尿L-FABP

1) L-FABPとは

L-FABPは、分子量 14-15 kDaの細胞質内の蛋白である。飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸、エイコサノイドなどの疎水性のリガンドと可逆性に結

1) 聖マリアンナ医科大学腎臓高血圧内科, 2) 同 解剖学機能組織

Acute Kidney Injury: Progress in Diagnosis and Treatments. Topics: III. Approach to Diagnosis; 2. Urinalysis and biomarker. Atsuko Kamijo-Ikemori¹⁾²⁾ and Kenjiro Kimura¹⁾ : ¹⁾Department of Nephrology and Hypertension, St. Marianna University School of Medicine, Japan and ²⁾Department of Anatomy, St. Marianna University School of Medicine, Japan.

【測定内容】	尿中L-FABPの測定（尿細管機能障害を伴う腎疾患の診断の補助）
【主な対象】	①eGFR $\geq$ 60の断続的に治療を受けている糖尿病患者、糸球体腎炎などの慢性腎臓病が疑われる患者 ②急性腎障害が確立されていない、薬剤性腎障害、敗血症または多臓器不全等の患者
【有用性】	①腎機能が低下する以前の糖尿病患者に対して、本検査を行うことにより糖尿病性腎症の病期進行リスクを判別し、また治療効果の判定にも使用できる可能性がある。 ②急性腎障害が確立されていない、敗血症または多臓器不全等の患者に対し、治療転帰を含めた重症化リスクを判別することで、血液浄化療法などの適応判断に利用可能性がある。

図 1. 臨床検査の保険適用について
区分E3（新項目）（測定項目が新しい品目）

合する蛋白である。1972年に初めて発見されて以来、現在は、9つのアイソタイプが知られている。肝臓型（Liver-L）、腸型（Intestinal-I）、心臓型（Heart-H）などを付け、L-FABP、I-FABPなどと分類されているが、これは初めてそのアイソタイプが発見された臓器にちなんでつけられている。FABPの機能は、結合した脂質をミトコンドリアやペルオキシソームといった脂肪酸の β 酸化が行われる細胞内小器官に輸送したり、脂肪酸をリガンドとする転写因子（peroxisome proliferator-activated receptor：PPAR）に輸送することにより、細胞内の脂肪酸レベルの恒常性に関与していると考えられている。また、過酸化脂質と結合し、抗酸化作用を有することも報告されている。

腎臓には、近位尿細管の上皮細胞にL-FABPが、遠位尿細管にH-FABPが発現している。腎臓におけるH-FABPの意義は不明であるが、L-FABPの生理作用は、肝臓において広く研究されており、腎臓においても同様な機能が推測される。L-FABPの腎疾患における役割および動態は、マウスを使用した動物実験で明らかにしてきた。腎疾患を進行させる様々な因子により、尿細管におけるL-FABPの発現は亢進し、尿中へのL-FABPの排泄が増加する事³⁾を見出した。

2) 測定法

尿中L-FABPは、シミック株式会社 菅谷健博

士らにより作成されたヒトL-FABPに対する特異的なモノクローナル抗体を用いて、サンドイッチELISA法で測定される⁴⁾。正常上限値は、8.4 $\mu\text{g/g.creatinine}$ と考えている。

この測定系は、保存安定性試験、希釈直線性試験、添加回収試験、凍結融解試験、日内・日差変動試験、測定再現性試験をクリアーしており、体外診断薬として承認されている。

3) 尿細管障害と尿中L-FABP

AKIは、尿細管障害を生じるが、その原因として、尿細管傍毛細血管障害による尿細管虚血が重要である。山本らは、ヒト生体腎移植時の虚血/再環流直後における尿細管周囲血流を非侵襲的CCDカメラビデオ撮影により計測し、同時に採取した初尿中の種々の診断指標と比較した⁵⁾。その結果、尿中L-FABPは、尿細管周囲血流と非常に強い相関を有しており（図2）、既存の尿検査項目（NAG、 α 1MG、 β 2MG）とは異なる機序により尿細管障害を鋭敏に検出できる事が明らかになった。

また、L-FABP Tgマウスを使用して作成した急性腎障害モデルの基礎的検討においても、急性腎組織障害の程度と腎L-FABP発現および尿中L-FABPは、高い相関を認めた（表⁶⁾。

4) AKIにおける尿中L-FABPの臨床的意義

(1) 心血管術後のAKI

2008年、Portillaらは、心臓手術を受けた40

トピックス

図 2. 傍尿細管毛細血管の血流と尿中バイオマーカーの関係（文献 5 より）
尿中L-FABPは、腎血流量と強い逆相関をしめしたが、その他の尿細管間質障害のマーカーと腎血流量に相関を認めなかった。

表. 腎臓でのL-FABP発現、および尿中L-FABPと腎組織障害の程度との相関（マウス腹腔内に葉酸を投与し、AKIを発症させた葉酸腎症モデルでの検討）（文献 6 より）

	尿細管障害の程度	マクロファージ浸潤の程度	コラーゲン Type I 沈着
腎臓でのL-FABP 蛋白発現	R=0.73 (p<0.01)	R=0.56 (p<0.001)	R=0.70 (p<0.0001)
尿L-FABP	R=0.70 (p<0.01)	R=0.50 (p<0.005)	R=0.67 (p<0.0001)

人の小児のうち、3 日以内にAKIになった患者 21 人（52%）では、血清クレアチニンが術後 48～72 時間で有意に上昇したが、尿中L-FABPは、術後 4 時間で著明に上昇し、AKIを認めなかった患者に比べ有意に高値であった（1,885 μg/g cr vs

360 μg/g cr)⁷⁾。術後 4 時間の尿中L-FABPでAKI 発症を予測する場合、受信者動作特性曲線(ROC) では、曲線下面積（AUC）0.81 と高値を示し、カットオフ値を 211 μg/g crとすると、感度 0.952、特異度 0.632 であった。

図 3. 心血管手術を受けた患者におけるAKI群および非AKI群の血清Crと尿バイオマーカーの推移 (文献9より)

* $P < 0.05$, 非AKI群との比較

** $P < 0.05$ 術前との比較

2011年に行われた小児を対象にした220人の大規模研究では、尿採取を人工心肺開始2時間後より始め、尿L-FABPを測定した。AKI発症例では、人工心肺開始6時間で尿中L-FABPは有意に上昇した⁸⁾。また、AKIの診断基準として提案

されたRIFLE分類では、「腎機能低下の程度」と「尿量の減少の程度と持続時間」から、Risk, Injury, Failure, Loss, ESKD (end stage kidney disease) の5段階にAKIの程度を分類しているが、AKI Failure (AKI F) やAKI Injury (AKI

トピックス

図4. 造影剤腎症の発症予測における尿中L-FABPのROC曲線¹¹⁾

造影剤腎症の発症予測における尿中L-FABPのROC曲線から算出された曲線下面積は、0.7。カットオフ値は、24.5 $\mu\text{g/g cr}$ であった。このカットオフ値で、感度82%、特異度69%であった。

I) では、AKI Risk (AKI R) より有意に尿中L-FABPが高値であった。尿中L-FABPは、AKIの早期診断に加え、AKIの重症度の判定にも有用である可能性が示された。

聖マリアンナ医大 松井医師を中心に行った臨床試験では、心血管手術を受けた成人85人を対象とした⁹⁾。その結果、AKIN分類でAKIと診断された患者48人(56%)では、術前に比べ、術直後および術後3時間で、有意に尿中L-FABPの上昇が認められた(尿中L-FABP値、術前11.2 $\mu\text{g/g cr}$ 、術後244.0 $\mu\text{g/g cr}$ 、術後3時間182.5 $\mu\text{g/g cr}$) (図3)。また、術前、術直後、術後3時間、6時間の尿中L-FABPが高値であることは、AKI発症の危険因子であり、AKI発症予測に対する感度特異度曲線(ROC)下面積は、0.8以上と高値であった。また、Crは、術後48時間に始めて有意に上昇しており、Cr上昇よりも早期にAKIの診断ができる事が示された。

最近の臨床研究では、新しいバイオマーカー

が、従来のAKI予測因子群よりも、AKI発症予測の確立が上昇するかどうかを評価するため、ROCに加え、総再分類改善度(net reclassification improvement: NRI)や総合判断改善度(integrated discrimination index: IDI)が検討されている。2011年の小児を対象にした臨床研究では、人工心肺開始6時間の尿中L-FABPは、NRI0.61, IDI 0.11と有意であり⁸⁾、2013年の結果では、術後0~6時間の尿中L-FABPは、NRI0.19, IDI 0.06と先の結果よりも低値ながら有意にAKI予測率が上昇することが示された¹⁰⁾。従来使用されている臨床的予測因子(性別、年齢、人種、人工心肺使用時間、強心剤スコア、RACHS3点以上、術前の腎機能など)よりも尿中L-FABPを測定することで、強いAKI発症予測が可能となることが示された。

(2) 造影剤投与によるAKI (造影剤腎症)

造影剤投与は、一過性の腎虚血を惹起することが知られている。造影剤腎症は、このような腎虚血、尿細管虚血により発症する急性腎不全である。造影剤腎症の早期診断にも尿中L-FABPが有用であることが報告されている。最近、眞鍋らは、造影剤投与前の尿中L-FABPが高値であることは、造影剤腎症の発症のリスクファクターであり、24.5 $\mu\text{g/g cr}$ がそのカットオフ値であることを、報告している¹¹⁾(図4)。この研究では、血清クレアチニンが1.2 mg/dl以上の冠動脈疾患患者220人を対象にし、造影剤腎症の発症は、19例(8.6%)に認められた。造影剤腎症の発症を認めた患者の造影剤投与前の血清クレアチニン、eGFR、NAG、 $\beta 2$ -MGは、非発症の患者と同程度であったが、尿中L-FABPのみ投与前より有意に高値であった。中等度の腎機能障害を認める患者に造影剤を投与する際には、尿中L-FABPを測定し、24.5 $\mu\text{g/g cr}$ 以上と高値であれば、造影剤発症予防の治療が必要と思われる。

(3) 敗血症に伴うAKI

敗血症の患者を対象にした臨床研究では、正

常対象者 (n = 30, 4.2 $\mu\text{g/g cr}$) に比べ、敗血症性ショックの患者 (n = 40, 1,860 $\mu\text{g/g cr}$)、ショックを伴わない敗血症患者 (n = 20, 248 $\mu\text{g/g cr}$)、ショックを伴わないAKI患者 (n = 20, 120 $\mu\text{g/g cr}$) で、有意に尿中L-FABPが高値であり、特に敗血症性ショックの患者で著明な尿中L-FABP上昇を認めたことが報告された¹²⁾。尿中L-FABPは、敗血症の重症度診断にも有用である可能性が示された。

2. 尿検査

AKIの早期診断後には、AKIの原因疾患を明らかにし、原因に応じた治療が必要である。AKIの原因を腎前性、腎性、腎後性の3つにわけて考えると理解しやすい。尿沈渣で、変形赤血球(糸球体性血尿)や細胞円柱が認められる場合は、糸球体性、尿細管性の疾患が疑われる。尿生化学検査では、FENaに加えて、利尿薬投与でも評価できるFEureaも指標にする。FENa<0.1~1% m FEurea<=35% であれば、腎前性、FENa>1% m FEurea50~65% であれば、腎性を疑う¹⁰⁾。尿蛋白が2~3 g/day以上を超えてみられる場合は、腎性を疑う。

おわりに

保険収載された尿中L-FABPを積極的に測定する事で、AKIの早期診断・早期介入が可能となり、その後の患者予後が改善される事が期待される。また、従来から行われている尿沈渣や尿蛋白、FENa、FEureaは、AKIの原因疾患の鑑別診断に有用である。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：木村健二郎：講演

料(大日本住友製薬、ノバルティスファーマ)、研究費・助成金(旭化成、大塚製薬、協和発酵キリン、武田薬品工業、日本ベーリンガーインゲルハイム、バクスター)

文 献

- 1) Lo LJ, et al: Dialysis-requiring acute renal failure increases the risk of progressive chronic kidney disease. *Kidney Int* 76: 893-899, 2009.
- 2) Star RA: Treatment of acute renal failure. *Kidney Int* 54: 1817, 1998.
- 3) Kamijo-Ikemori A, et al: Roles of human liver type fatty acid binding protein in kidney disease clarified using hL-FABP chromosomal transgenic mice. *Nephrology* 16: 539-544, 2011.
- 4) Kamijo A, et al: Urinary fatty acid binding protein as a new clinical marker for the progression of chronic renal disease. *J Lab Clin Med* 143: 23-30, 2004.
- 5) Yamamoto T, et al: Renal L-type fatty acid-binding protein in acute ischemic injury. *J Am Soc Nephrol* 18: 2894-2902, 2007.
- 6) Yokoyama T, et al: Urinary excretion of liver type fatty acid binding protein accurately reflects the degree of tubulointerstitial damage. *Am J Pathol* 174: 2096-2106, 2009.
- 7) Portilla D, et al: Liver fatty acid-binding protein as a biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int* 73: 465-472, 2008.
- 8) Krawczeski CD, et al: Temporal relationship and predictive value of urinary acute kidney injury biomarkers after pediatric cardiopulmonary bypass. *Journal of the American College of Cardiology* 58: 2301-2309, 2011.
- 9) Matsui K, et al: Usefulness of urinary biomarkers in early detection of acute kidney injury after cardiac surgery in adults. *Circ J* 76: 213-220, 2012.
- 10) Parikh CR, et al: Performance of Kidney Injury Molecule-1 and Liver Fatty Acid-Binding Protein and Combined Biomarkers of AKI after Cardiac Surgery. *Clin J Am Soc Nephrol* 8: ePub, 2013.
- 11) Manabe K, et al: Urinary liver-type fatty acid-binding protein level as a predictive biomarker of contrast-induced acute kidney injury. *European journal of clinical investigation* 42: 557-563, 2012.
- 12) Nakamura T, et al: Urinary liver-type fatty acid-binding protein in septic shock: effect of polymyxin B-immobilized fiber hemoperfusion. *Shock* 31: 454-459, 2009.