

特集：腎臓学この一年の進歩

AKI

土井 研人 根岸 康介 野入 英世

基礎的検討：AKIの慢性化について

急性腎障害 (acute kidney injury; AKI) の慢性化が話題となっている。種々の検討方法が考えられるが、2010 年前半の Bonventre のグループからの報告は、AKI の慢性腎臓病 (CKD) 化に関して特に腎線維化へのメカニズムに新しい解釈を与えるものであった¹⁾。この報告の焦点は、急性腎障害による細胞周期の乱れが TGF- β_1 を増強し線維化を助長するというもので、尿管結紮やアリストロキア酸による腎線維化が明確に生じるモデルや、異なる強度の腎虚血再灌流、対側腎のみの尿管結紮や虚血再灌流での健側腎との比較、などの多彩なマウスの実験系を通じてこの傾向が見出されることを示した。そして、細胞周期が G2/M 期で停止すると細胞分裂の中間期から分裂期へ向かうことができず、障害からの回復機転が働かないため、尿管上皮細胞は病的な線維化へと向かうことを示した。特に、G2/M 期で止まった尿管上皮細胞では、TGF- β_1 や CTGF (connective tissue growth factor) が大量に産生されるため、正常な尿管上皮細胞をも同様に病化してしまい、線維芽細胞を刺激して増殖させるメカニズムが示唆された。実際に、*in vivo* で G2/M 期に停止させる操作を cyclin-dependent kinase-1 阻害薬や taxol, microtubule 安定化薬で行うと、線維芽細胞増殖に関与する遺伝子群の発現が増強し、逆に ATM や p53 阻害薬を用いて G2/M 期での停止を解除してやると、これらの発現は正常化した。

同様に、AKI の CKD 化を解析するモデルとして薬酸腎症は近年注目を集めているが²⁾、このモデルを用いて Kal-luri のグループが線維化増強へのエピジェネティクスの関与を検討している³⁾。ヒト腎線維化においてメチル化に関与する遺伝子をスクリーニングし、そのなかで前癌遺伝子

の Ras を抑制することで知られている RASAL1 のメチル化に注目した。つまり、RASAL1 が高度メチル化する病態により Ras を制御できなくなって線維芽細胞増殖が生じるのではないかということである。障害後の線維芽細胞を脱メチル化剤で処理すると線維化は減弱した。RASAL1 のメチル化を戻してやると同様に線維化が減弱したのに対して、これをノックダウンすると Ras の活性が増強して線維芽細胞増殖がコラーゲン合成が進んだ。さらに、DNA methyltransferase のヘテロ欠損マウスを用いた実験やこれに対する RNAi を用いた実験で、RASAL1 の epigenetic silencing とそれにより生じる Ras 活性増強が線維芽細胞増殖を助長することを示した。

以上の検討をまとめると、AKI 発症後に尿管上皮細胞が回復する場合と、AKI の CKD 化の特徴である尿管間質線維化へ至る場合とは、図 1 に示した理解となる。

基礎的検討：遠隔臓器連関について

最近、心腎連関 (cardiorenal syndrome) といった概念が提唱され、臓器間のクロストークが注目されている⁴⁾。CKD と心血管合併症における心腎連関についてはさまざまなメカニズムが存在することが明らかになってきた。一方、AKI についても腎臓に限局した障害だけではなく、遠隔臓器である肺・心臓・脳などの障害が惹起されることが知られている (図 2)⁵⁾。

高い死亡率を示す多臓器不全のなかでも、特に急性腎障害と急性呼吸不全を合併した場合の予後はきわめて悪い。AKI 症例においては ARDS/ALI (acute respiratory distress syndrome/acute lung injury) を高頻度に合併し、その場合の死亡率は 60~80% 程度と報告されている⁶⁾。古典的には尿毒性肺 (uremic lung) という病態が肺腎連関を意味するものであったが、uremic lung には血管透過性亢進という因子に加えて、体液過剰による volume overload の病態と好中球

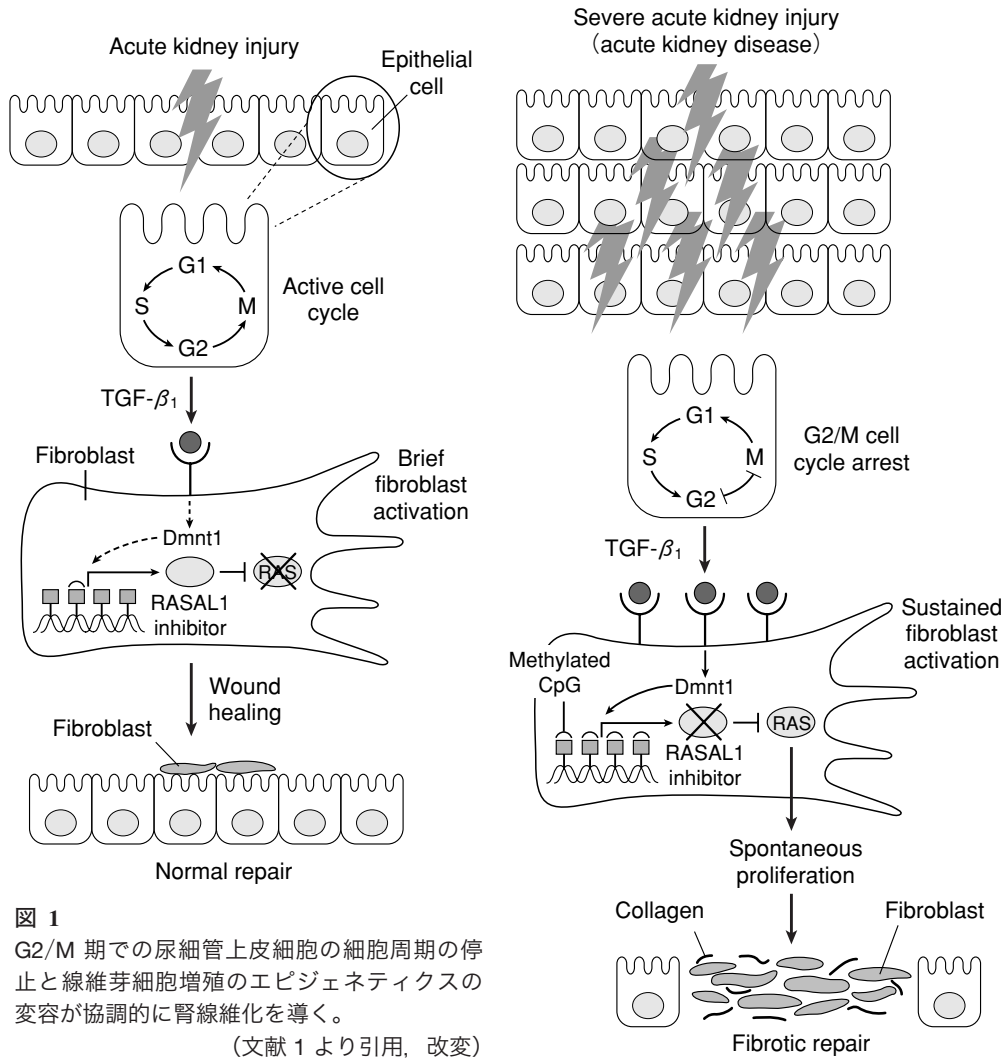


図 1
G2/M 期での尿管上皮細胞の細胞周期の停止と線維芽細胞増殖のエピジェネティクスの変容が協調的に腎線維化を導く。
(文献 1 より引用, 改変)

活性化などの炎症による病態が混在しており、末期腎不全症例に生じる uremic lung には前者が、ICU において AKI に合併して発症した ARDS/ALI においては後者が重要であることが指摘されている⁷⁾。このような背景をもとに AKI 動物モデルにおける肺病変が検討され、複数の pathway が報告されている。Johns Hopkins 大学の Rabb らは、ラット・マウスの虚血再灌流障害あるいは両腎摘モデルにおいて、肺における炎症細胞浸潤と肺水腫が惹起されることを見出し、肺上皮細胞の ENaC, AQP-5 など、fluid clearance に関与する分子の発現が減少していることを報告した。さらに、アレイを用いた網羅的解析によって肺組織における炎症関連遺伝子の発現が亢進していることを示した⁸⁾。Colorado 大学の Faubel らは、マウス両腎摘モデルにおいて肺組織に好中球が集簇しているのみならず、IL-1 β , IL-6, IL-10, KC, GCSF など種々のサイトカインの血中濃度が上昇することを見出し、IL-6 遺伝子欠損マウスにお

いては AKI によって誘導される肺病変が軽減することを報告している⁹⁾。われわれはマウス両腎摘モデルを用いた解析により、AKI により惹起された肺病変においては多数の好中球浸潤を認めるのに加えて、血中および肺組織における好中球エラスターゼ (NE) 活性が上昇していることを発見した。さらに、特異的 NE 阻害薬により炎症性サイトカイン産生や血管透過性亢進といった肺障害が軽減することを報告した¹⁰⁾。

AKI における肺障害を惹起する新たな分子メカニズムが解明されれば、ICU 症例の約 30~40% に発症する AKI、人工呼吸管理を要する症例の約 20% に発症する ARDS/ALI、および両者を合併した重篤な多臓器不全症例の予後改善が期待でき、社会的にも意義が大きいと思われる。

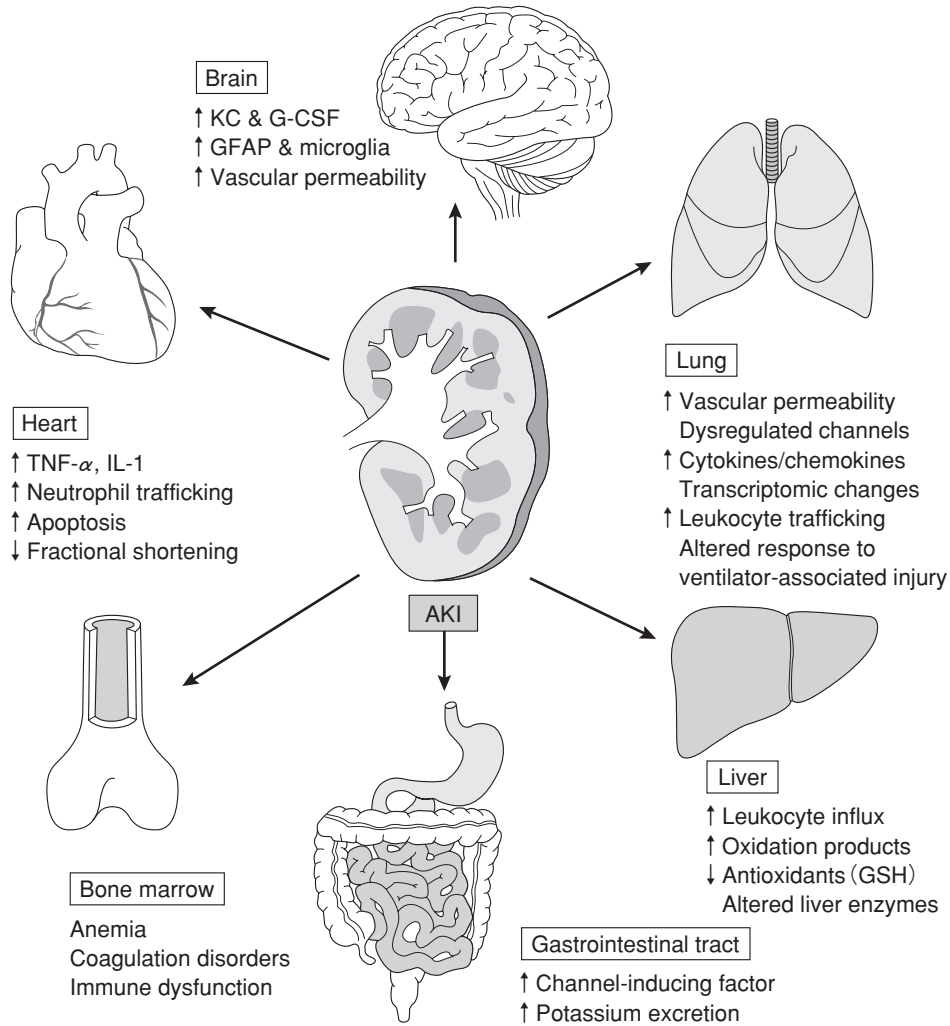


図 2 急性腎障害の遠隔臓器連関(文献 5 より引用)

基礎的な話題：薬剤性腎障害に対する AKI バイオマーカーの応用

2007 年に薬剤性腎障害評価のためのバイオマーカーについて、FDA (Food and Drug Administration) と EMEA (European Medicines Agency) が主導する形で会議が行われ、7つの候補バイオマーカーが選定された。これらのバイオマーカーは、BUN や SCr といった既存の指標と連動して変化し、動物モデル(ラット)で組織学的な障害所見が尿細管もしくは糸球体に確認されるか、尿細管再吸収障害がみられること、さらに腎障害診断に関して BUN や SCr よりも感度・特異度で優れていること、そして臨床においても有用性が報告されているという特徴に基づくものであった¹¹⁾。バイオマーカーについては、組織学的な腎障害所見をゴールドスタンダードとする評価法によって診断精度を比較検

討する有用性が示され¹²⁾、これらの候補についても薬剤性腎障害について同様に検討した結果、血清では cystatin C の優位性が¹³⁾、尿では Kim-1 (kidney injury molecule-1) の優位性が示された¹⁴⁾。

ここで使用されている ROC 解析(receiver operating characteristic analysis, 受信者動作特性解析)という診断精度の比較手法は、最も優れた感度・特異度を定める統計解析法である。われわれは、L-FABP (L-type fatty-acid binding protein) について腎虚血再灌流と cisplatin による AKI という2つの動物モデルにおいて、ROC 解析を適用し、尿 L-FABP が BUN, SCr, NAG に比べて早期かつ高精度で、組織学的かつ機能的な腎障害を同定しうることを見出している¹²⁾。

今後、こうした動物モデルによる組織学的腎障害を基準とした腎障害バイオマーカーの診断精度評価をもとに、臨

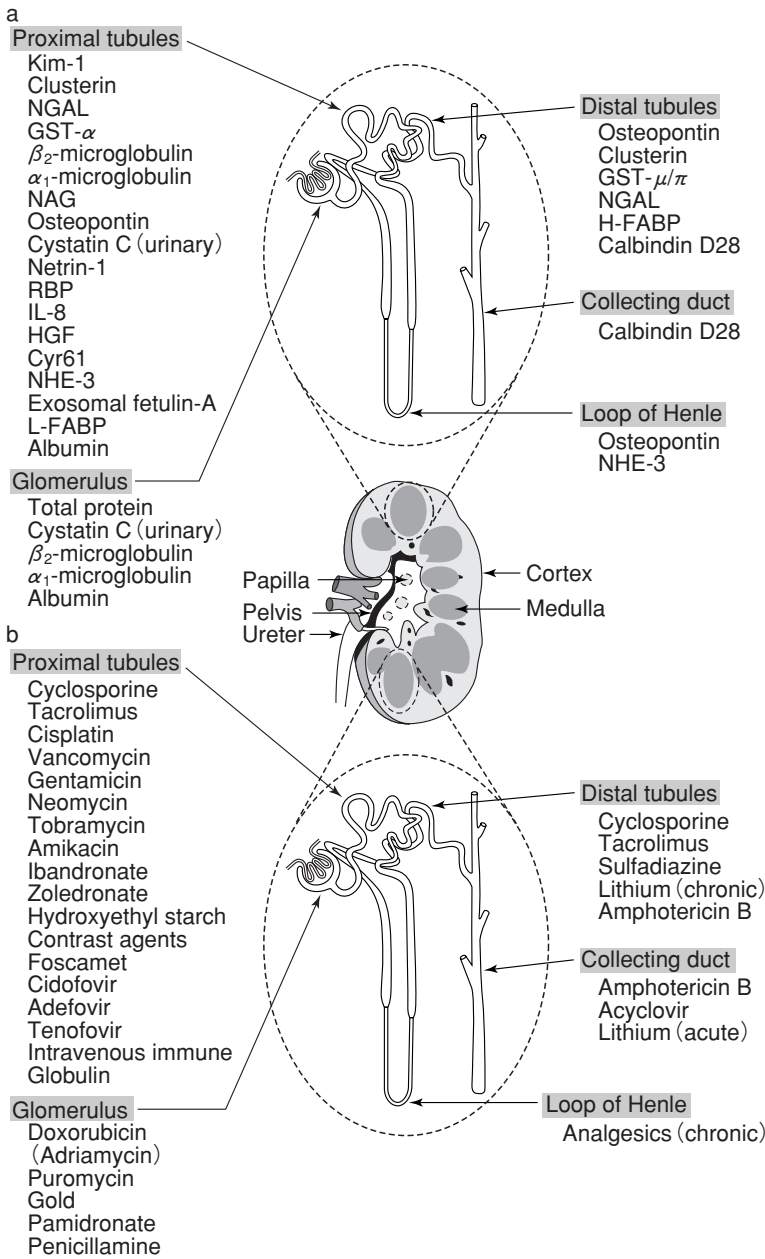


図 3

a : ネフロン部位特異的腎障害マーカー
 b : 薬剤別の腎毒性が誘発される主要なネフロン部位
 (文献 15 より引用, 改変)

床での有用性評価への展開や新規薬剤の腎毒性評価への応用も視野に、バイオマーカー研究はさらに発展することが見込まれている。その過程では、複数のバイオマーカーを組み合わせたパネル化による診断精度向上や、各バイオマーカーの機能・発現解析などによってネフロン部位別に特異的な診断評価法への発展が期待される(図 3)¹⁵⁾。

臨床的な話題：血清クレアチニン (SCr) 基準について

AKI という概念は、Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) group および Acute Kidney Injury Network (AKIN) により提唱され、同時に RIFLE 基準、AKIN 基準といった新しい AKI 診断基準が作成された。これらの基準は SCr に基づく SCr (GFR) 基準と尿量基準の 2 つの指標にて構成される。疫学的検討においては主に前者が広く用いられているが、最近になっていくつかの問題点が指摘されている。

従来、SCr が GFR の変化よりもある程度の遅れをもって変化することは知られており¹⁶⁾、例えば日本腎臓学会が近年提唱した、SCr と年齢に基づいた推定 GFR 式を AKI 症例に用いることは適切ではない。腎臓からの排泄以外の要素もクレアチニンの血中濃度を規定しており、栄養状態悪化や全身の筋肉量低下によりクレアチニン産生量が減少することはよく知られているが、敗血症性ショックのような metabolism が低下しているような病態ではクレアチニン産生が低下しており、見かけ上の SCr が低下するだけではなく、むしろ敗血症に対する治療により逆説的に SCr が上昇してしまう現象も実験的に証明されている¹⁷⁾。

また、SCr 基準では baseline からの上昇をもって AKI の診断および重症度判定を行っているが、baseline 値が不明な場合は MDRD 式による推定 (RIFLE 基準) あるいは 48 時間以内の上昇 (AKIN 基準) をもって AKI の診断を行うことになる。この場合、acute-on-chronic のパターンをとる CKD 症例の混在が問題であり、baseline 値の設定によって AKI 診断・重症度が大きく異なることが報告されている^{18,19)}。

さらに、尿管上皮細胞障害・壊死に至らない腎前性腎不全においても SCr の上昇が認められるが、同等の SCr 上昇を呈した腎性腎不全(急性尿管壊死：ATN)と同じ重症度カテゴリーに分類されうることは、RIFLE・AKIN 基準の予後予測における精度に影響を与えると思われる。後述するように AKI の病態形成の主たる部位である尿管における細胞障害を検出する AKI バイオマーカーの臨床応用が進められており、将来的には AKI 診断基準にも採用さ

表 AKI Workshop 2008 にて選出された AKI バイオマーカー

	発現	検体	特徴	メカニズム	欠点
NGAL	遠位尿細管 好中球	尿 血液	AKI 早期に上昇, 広いダイナミック レンジ	障害時に腎での発 現亢進	感染症で上昇・血 中から尿中への移 行
KIM-1	近位尿細管 T 細胞	尿	比較的遅いタイミ ングで上昇	細胞外ドメインが 切断され尿中へ排 泄	腎癌で上昇あり
L-FABP	近位尿細管 肝臓	尿	AKI 早期に上昇, 広いダイナミック レンジ	低酸素・酸化スト レスにより近位尿 細管に誘導	血中から尿中への 移行
IL-18	近位尿細管 マクロファージ	尿	比較的遅いタイミ ングで上昇	腎障害時には近位 尿細管で誘導され る。	幅広い炎症疾患で 上昇しうる。
IL-6	マクロファージ リンパ球	血液	多臓器不全に合併 した AKI におい て上昇	全身性炎症反応に よる。	幅広い炎症疾患で 上昇しうる。
Cystatin C	全有核細胞	尿 血液	尿と血液における 挙動が異なる。	尿では尿細管障 害, 血液では GFR 低下を反映	血液では反応が遅 い。
NAG	近位尿細管冊子縁	尿	わが国で広く用い られている。	尿細管障害により 尿中に逸脱	測定時に失活が問 題

NGAL : neutrophil gelatinase-associated lipocalin, KIM-1 : kidney injury molecule-1, L-FABP : liver-type fatty acid-binding protein, IL-18, IL-6 : interleukin-18, -6, NAG : N-acetyl-beta-glucosaminidase

れる可能性がある。

臨床的な話題：AKI バイオマーカーの臨床における評価

2008 年 Washington DC で開催された AKIN ミーティングでは、今後臨床応用に向けて検討に値する AKI バイオマーカーとして、表に示す 7 つのバイオマーカーが示された。2010 年現在、新規 AKI バイオマーカー研究は、動物実験を中心とした基礎検討を終え、十分に characterize された典型的 AKI コホートでの臨床評価を経て、前向きに AKI の発症あるいは血液浄化療法の開始や死亡率などの重症度・予後予測が可能であるかどうかを検討する段階に入っている。

以下に NGAL, KIM-1, L-FABP といった代表的新規 AKI バイオマーカーの現状を解説する。2005 年 Lancet 誌において、小児開心術後 AKI における検討で、術後 2 時間における血漿・尿 NGAL 値が、ほぼ 100% の確率で 24~48 時間後の AKI 発症を予想できたという衝撃的な結果が

報告され、AKI バイオマーカー研究の発端となった²⁰⁾。その後、心臓バイパス術後 AKI、造影剤腎症、敗血症性 AKI、腎移植後腎障害など、多数の臨床 AKI コホートにおける検討がなされ、感度・特異度とも第 1 報ほどの良い結果は得られていないものの、早期に AKI の発症を検出できるとの評価を得ている。Haase らのメタアナリシスでは、19 の臨床研究における 2,538 症例が解析され、小児例においては、AKI 診断における NGAL の精度は、Area under the curve of ROC (AUC-ROC) 0.930、感度 77.6%、特異度 88.0%であるのに対して、成人例では AUC-ROC 0.782、感度 72.5%、特異度 80.1%という結果であった²¹⁾。また、最近報告された救急外来におけるスポット尿における検討では、AKI 症例において尿 NGAL が有意に上昇しており、AKI 診断の精度は AUC-ROC 0.948、感度 90.0%、特異度 99.5%であった。多重ロジスティック回帰分析において、外来での尿 NGAL が、入院後の血液透析施行、ICU 入室と有意に関連していたことが明らかになった²²⁾。

小児および成人心臓手術後 AKI コホートにおいて、尿 KIM-1 の AKI バイオマーカーとしての評価が行われた。

小児例においては術後12時間後の尿KIM-1測定がROC-AUC 0.83という精度でAKIを診断したのに対して、成人例術後18時間後の尿KIM-1測定ではROC-AUC 0.60という結果であった^{23,24)}。同様の検討がL-FABPに対しても行われ、小児心臓バイパス術AKIにおいて、術後4時間での尿L-FABPのAKI診断予測は、ROC-AUC 0.81、感度71.4%、特異度68.4%と良好な結果が報告されている²⁵⁾。また、敗血症性ショックに対してエンドトキシン吸着療法が施行された症例における検討では、生存群では尿L-FABPが治療前から有意に低く、さらに治療に反応して低下する一方、死亡群では治療前尿L-FABPが高値であり、しかも治療に反応した低下もみられなかった^{26,27)}。また、AKIを合併した敗血症性ショック症例における検討では、尿L-FABPはAPACHE (acute physiology and chronic health evaluation) スコアよりも高い精度で死亡予測可能であった²⁸⁾。現在、さらにヘテロなmixed ICUにおけるAKI診断および死亡予測についての検討が進行中である。

小児心臓手術後AKIコホートのような、患者背景にバラツキが少なく腎障害の発症が明確に把握できる場合には新規AKIバイオマーカーの精度は高いものの、成人心臓手術後AKIやICU発症AKI、敗血症性AKIといった不均一な患者背景と複雑なAKIの病態が組み合わされるにつれ、その精度が低下することは避けられない。その解決策として、1) 複数のバイオマーカーを組み合わせる(パネル化)ことでその精度を上げる、2) 臨床現場において高い感度(早期検出)が重要な状況と十分な特異度(確実なAKIの進展)が必要とされる状況を区別し、バイオマーカーの閾値を複数設定する、といったことが検討されている。

文 献

1. Yang L, Besschetnova TY, Brooks CR, Shah JV, Bonventre JV. Epithelial cell cycle arrest in G2/M mediates kidney injury. *Nat Med* 2010 ; 16 : 535-543.
2. Doi K, Okamoto K, Negishi K, Suzuki Y, Nakao A, Fujita T, Toda A, Yokomizo T, Kita Y, Kihara Y, Ishii S, Shimizu T, Noiri E. Attenuation of folic acid-induced renal inflammatory injury in platelet-activating factor receptor-deficient mice. *Am J Pathol* 2006 ; 168 : 1413-1424.
3. Bechtel W, McGoohan S, Zeisberg EM, Müller GA, Kalbacher H, Salant DJ, Müller CA, Kalluri R, Zeisberg M. Methylation determines fibroblast activation and fibrogenesis in the kidney. *Nat Med* 2010 ; 16 : 544-550.
4. Ronco C, Haapio M, House AA, Anavekar N, Bellomo R. Cardiorenal syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2008 ; 52 : 1527-1539.
5. Scheel PJ, Liu M, Rabb H. Uremic lung : new insights into a forgotten condition. *Kidney Int* 2008 ; 74 : 849-851.
6. Mehta RL, Pascual MT, Gruta CG, Zhuang S, Chertow GM. Refining predictive models in critically ill patients with acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2002 ; 13 : 1350-1357.
7. Faubel S. Pulmonary complications after acute kidney injury. *Adv Chronic Kidney Dis* 2008 ; 15 : 284-296.
8. Grigoryev DN, Liu M, Hassoun HT, Cheadle C, Barnes KC, Rabb H. The local and systemic inflammatory transcriptome after acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 547-558.
9. Klein CL, Hoke TS, Fang WF, Altmann CJ, Douglas IS, Faubel S. Interleukin-6 mediates lung injury following ischemic acute kidney injury or bilateral nephrectomy. *Kidney Int* 2008 ; 74 : 901-909.
10. Ishii T, Doi K, Okamoto K, Imamura M, Dohi M, Yamamoto K, Fujita T, Noiri E. Neutrophil elastase contributes to acute lung injury induced by bilateral nephrectomy. *Am J Pathol* 2010 ; 177 : 1665-1673.
11. Dieterle F, Sistare F, Goodsaid F, Papaluca M, et al. Renal biomarker qualification submission : a dialog between the FDA-EMA and Predictive Safety Testing Consortium. *Nat Biotechnol* 2010 ; 28 : 455-462.
12. Negishi K, Noiri E, Doi K, Maeda-Mamiya R, Sugaya T, Portilla D, Fujita T. Monitoring of urinary L-type fatty acid-binding protein predicts histological severity of acute kidney injury. *Am J Pathol* 2009 ; 174 : 1154-1159.
13. Ozer JS, Dieterle F, Troth S, Perentes E, et al. A panel of urinary biomarkers to monitor reversibility of renal injury and a serum marker with improved potential to assess renal function. *Nat Biotechnol* 2010 ; 28 : 486-494.
14. Vaidya VS, Ozer JS, Dieterle F, Collings FB, Ramirez V, Troth S, Muniappa N, Thudium D, Gerhold D, Holder DJ, Bobadilla NA, Marrer E, Perentes E, Cordier A, Vonderscher J, Maurer G, Goering PL, Sistare FD, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in preclinical biomarker qualification studies. *Nat Biotechnol* 2010 ; 28 : 478-485.
15. Bonventre JV, Vaidya VS, Schmoeder R, Feig P, Dieterle F. Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity. *Nat Biotechnol* 2010 ; 28 : 436-440.
16. Star RA. Treatment of acute renal failure. *Kidney Int* 1998 ; 54 : 1817-1831.
17. Doi K, Yuen PS, Eisner C, Hu X, Leelahavanichkul A, Schnermann J, Star RA. Reduced production of creatinine limits its use as marker of kidney injury in sepsis. *J Am Soc Nephrol* 2009 ; 20 : 1217-1221.
18. Pickering JW, Endre ZH. Back-calculating baseline creatinine with MDRD misclassifies acute kidney injury in the intensive care unit. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010 ; 5 : 1165-1173.
19. Siew ED, Matheny ME, Ikizler TA, Lewis JB, Miller RA, Waitman LR, Go AS, Parikh CR, Peterson JF. Commonly used surrogates for baseline renal function affect the classification and

- prognosis of acute kidney injury. *Kidney Int* 2010 ; 77 : 536–542.
20. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, Ruff SM, Zahedi K, Shao M, Bean J, Mori K, Barasch J, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005 ; 365 (9466) : 1231–1238.
 21. Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A ; NGAL Meta-analysis Investigator Group. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury : a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2009 ; 54 : 1012–1024.
 22. Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, Sise ME, Canetta PA, Barasch N, Buchen C, Khan F, Mori K, Giglio J, Devarajan P, Barasch J. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. *Ann Intern Med* 2008 ; 148 : 810–819.
 23. Han WK, Waikar SS, Johnson A, Betensky RA, Dent CL, Devarajan P, Bonventre JV. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. *Kidney Int* 2008 ; 73 : 863–869.
 24. Han WK, Wagener G, Zhu Y, Wang S, Lee HT. Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009 ; 4 : 873–882.
 25. Portilla D, Dent C, Sugaya T, Nagothu KK, Kundi I, Moore P, Noiri E, Devarajan P. Liver fatty acid-binding protein as a biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int* 2008 ; 73 : 465–472.
 26. Nakamura T, Sugaya T, Koide H. Urinary liver-type fatty acid-binding protein in septic shock : effect of polymyxin B-immobilized fiber hemoperfusion. *Shock* 2009 ; 31 : 454–459.
 27. Doi K, Noiri E, Sugaya T. Urinary L-type fatty acid-binding protein as a new renal biomarker in critical care. *Curr Opin Crit Care* 2010 ; 16 : 545–549.
 28. Doi K, Noiri E, Maeda-Mamiya R, Ishii T, Negishi K, Hamasaki Y, Fujita T, Yahagi N, Koide H, Sugaya T, Nakamura T. Urinary L-type fatty acid-binding protein as a new biomarker of sepsis complicated with acute kidney injury. *Crit Care Med* 2010 ; 38 : 2037–2042.