

# 同種造血幹細胞移植後の急性腎障害： 尿中バイオマーカーによる早期診断

森戸 卓 安藤 稔 土谷 健 新田孝作

Early identification of acute kidney injury after hematopoietic stem cell transplantation  
by the measurement of urinary biomarkers

Taku MORITO, Minoru ANDO, Ken TSUCHIYA, and Kosaku NITTA

Department IV of Internal Medicine, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan

## 要 旨

**目 的：**急性腎障害(acute kidney injury : AKI)は造血幹細胞移植(SCT)関連合併症の一つである。本研究は SCT 後 AKI 発症の早期予測が尿中バイオマーカーにより可能であるかについて調べることを目的とした。

**対 象：**当院で 2008 年 12 月から 2010 年 6 月の間に、造血系疾患を原疾患とした骨髄破壊の前処置による同種 SCT を受け、慢性腎臓病(CKD)合併例を除外した 40 症例。対象の平均年齢は  $46.0 \pm 12.5$  歳、平均推算 GFR は  $96.1 \pm 25.3$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>

**方 法：**前向きコホート研究。尿中バイオマーカーとして N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase (NAG),  $\beta_2$  microglobulin ( $\beta_2$ M),  $\alpha_1$  microglobulin ( $\alpha_1$ M) を、前処置施行前、移植当日、移植後 7 日、移植後 14 日に測定した。AKI は移植後 100 日以内の eGFR 低下の有無で診断し、重症度を RIFLE 基準で分類した。尿中バイオマーカー値による AKI 予測能は area under the receiver operating characteristic (AuROC) curve で、また、AKI の関連因子を多変量ロジスティック回帰分析で評価した。

**結 果：**打ち切り例はなかった。AKI は 28 例(70%)発症し、各 AKI ステージの発症率は Risk 25.0%, Injury 17.5%, Failure 22.5%, Loss 5.0%であった。4 例(10%)が移植後 100 日以内に死亡したが、4 例とも移植後 40 日未滿に AKI  $\geq$  Injury を発症した群(重症 AKI 群)に含まれた。すべての尿中バイオマーカー値は前処置施行前に比べ、移植当日には有意に上昇した。また、重症 AKI 群の移植後 7 日 NAG,  $\alpha_1$ M 濃度は他群に比較して有意に上昇し、これらの AuROC はそれぞれ NAG=0.783(95% confidence interval[CI], 0.611-0.966),  $\alpha_1$ M=0.807(95% CI, 0.647-0.956)であった。また、移植後 7 日の  $\alpha_1$ M 値は重症 AKI 発症と有意な関連(odds ratio, 18.4; 95% CI, 1.21-736, p=0.035)を示した。

**考 察：**SCT 患者の尿中バイオマーカー値は前処置後から上昇する。移植後 40 日未滿に発症する AKI  $\geq$  Injury は患者の短期生命予後に関係し、これを早期に予測するには尿中  $\alpha_1$ M 測定が有用である。

**結 論：**SCT 後早期から尿中  $\alpha_1$ M 値をモニタリングすることによりハイリスク AKI を予測できる可能性がある。

**Objective :** Myeloablative (m-allo) hematopoietic stem cell transplantation (SCT) involves a great risk of acute kidney injury (AKI). We assessed whether or not early elevation of urinary biomarkers is useful for identifying high-risk patients for AKI.

**Material and methods :** A prospective cohort study was conducted in 40 patients ( $46.0 \pm 12.5$  years, eGFR  $96.1 \pm 25.3$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>) who received m-allo SCT in our hospital. We measured urinary biomarkers such as N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase (NAG),  $\beta_2$  microglobulin ( $\beta_2$ M),  $\alpha_1$  microglobulin ( $\alpha_1$ M) before conditioning therapy, on the day of SCT and both days 7 and 14 after SCT. AKI was defined as a decrease in eGFR

within 100 days after SCT, and classified based on the RIFLE criteria. Discriminative sensitivity of urinary biomarkers was estimated using area under receiver operating characteristic (AuROC) curve analysis.

**Results** : AKI occurred in 28 cases (70 %) : risk was 25.0 %, injury was 17.5 %, failure was 22.5 % and loss was 5.0 %, respectively. Only 4 cases with AKI  $\geq$  injury that occurred less than 40 days after SCT died within 100 days after SCT. Thus, this level of AKI was denoted as “severe AKI” and targeted for early identification. Values of all urinary biomarkers increased gradually after the conditioning therapy, and both NAG and  $\alpha_1$ M values at day 7 became significantly higher in the severe AKI group than in the opposite group. The AuROC showed that both NAG and  $\alpha_1$ M values at day 7 had moderate discriminative sensitivity for predicting severe AKI (NAG : 0.783, 95 % confidence interval [CI] 0.611–0.966 ; and  $\alpha_1$ M : 0.807, 95 % CI 0.647–0.956, respectively). Multivariate logistic regression showed that only  $\alpha_1$ M at day 7 was significantly associated with the occurrence of severe AKI (odds ratio 18.4, 95 % CI 1.210–736,  $p=0.035$ ).

**Conclusion** : Consecutive monitoring of urinary  $\alpha_1$ M after SCT is likely to be useful for early identification of patients at risk for severe AKI, leading to early death.

Jpn J Nephrol 2011 ; 53 : 1150–1158.

**Key words** : urinary biomarker, acute kidney injury,  $\alpha_1$  microglobulin, hematopoietic stem cell transplantation

## 緒 言

造血幹細胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation : SCT) は 1950 年代後半に米国で開始され、わが国では 1970 年代から徐々に実施され始めた。その後の治療技術の進歩と治療薬の開発により SCT の治療成績は大幅に向上した。しかし、SCT に関連した合併症には依然として克服しきれていないものがあり、その一つとして急性腎障害 (acute kidney injury : AKI) があげられる。同種造血幹細胞移植においては、通常用法・用量をはるかに超える大量の化学療法や放射線療法、そして免疫抑制薬、感染予防のために投与される抗生物質、抗真菌薬、抗ウイルス薬などが腎に負担をかけ、また、敗血症や移植片対宿主病 (graft versus host disease : GVHD) などを契機とした全身性炎症反応症候群 (systemic inflammatory response syndrome : SIRS) が AKI の原因となる。一方、いったん明らかな腎不全が生じると、輸液量や薬物投与の制約が生じることで十分な治療を施行することが困難な状態になり、更なる敗血症や GVHD の増悪を招く。また、体液過剰や humoral mediator を介して、うっ血性心不全や急性肺障害など他臓器障害を誘発するきっかけとなる。これまでに同種骨髄破壊の前処置を行った SCT 患者の AKI 発生頻度が高いこと、また、AKI 発症が患者の生命予後にかかわる重要な因子の一つであることが報告されている<sup>1~3)</sup>。

SCT 後 AKI が短期および長期生命予後の関連因子であること<sup>4~6)</sup>、AKI の重症度に比例して死亡率が増加すること<sup>1,7)</sup>、さらには SCT 成功後長期生存者に発症する慢性腎臓病 (CKD) の危険因子であることなどが示されている<sup>5,6)</sup>。したがって、SCT 後の重症 AKI 発症リスクのある患者を

できるだけ早期に予測し、腎機能が明らかに低下する前に治療することは、腎臓庇護の立場からばかりではなく、移植患者の生命予後を改善する観点からもきわめて重要なことである。一方で近年、軽症 AKI を早期に発見することの重要性に対する国際的なアセスメントが得られ、AKI 診断基準の整理見直しが行われた<sup>8,9)</sup>。また、AKI の早期発見のためのツールとして多くの尿中・血中バイオマーカーの有用性が研究されつつある<sup>10~14)</sup>。しかし、それらの研究は主に心臓血管疾患手術後の患者または集中治療室入室中の患者に生じる AKI を対象としたものであり、SCT 患者を対象として AKI の早期診断における尿中バイオマーカー測定の有用性を研究した論文は現状で見つけることはできない。

本研究は、通常診療で測定可能な 3 種類のバイオマーカーの尿中濃度を SCT 前後で前向きに測定し、治療経過中に発症する潜在的尿細管障害を早期に捉え、それが AKI 発症予測に有用であるかどうかを検討することを目的とした。

## 対象と方法

### 1. 対 象

2008 年 12 月から 2010 年 6 月までの間に当院血液内科で造血系疾患を原疾患として SCT を受けた 115 例の患者のうち、①骨髄破壊的・同種 SCT、②移植前推算糸球体濾過量 (estimated glomerular filtration rate : eGFR) 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> 以上、③本臨床研究参加同意、の 3 条件を満たした 40 症例を対象とした。なお、本研究は当院倫理委員会の承認を得たものであり、文書による同意を得ている (承認番

**Table 1. Characteristics of myeloablative allogeneic SCT patients**

Number of patients	40
Male, no.	20
Age, yr	46.0±12.5
eGFR, mL/min/1.73 m <sup>2</sup>	96.1±25.3
Comorbidity, no.	
Hypertension	4
Diabetes mellitus	1
Diagnosis, no.	
AML	17
MDS	10
ALL	8
SAA	2
CML	1
MM	1
ATL	1
Type of stem cell, no.	
BM	34
CB	4
PB	2
Number of transplantation, no.	
First	36
Second	4
Myeloablative conditioning no.	
CA/CY/TBI12Gy	18
MEL/TBI12Gy	2
VP-16/CY/TBI12Gy	1
BU/CY	18
BU/MEL	1
GVHD prophylaxes*, no.	
FK+s-MTX	29
CyA+s-MTX	13

Abbreviations : AML, acute myelogenous leukemia ; MDS, myelodysplastic syndrome ; ALL, acute lymphocytic leukemia ; SAA, severe aplastic anemia ; CML, chronic myelogenous leukemia ; MM, multiple myeloma ; ATL, adult T-cell leukemia ; BM, bone marrow ; CB, cord blood ; PB, peripheral blood ; CA, cytarabine ; CY, cyclophosphamide ; TBI, total body irradiation ; MEL, melphalan ; VP-16, etoposide ; BU, busulfan ; FK, tacrolimus ; CyA, cyclosporine ; s-MTX, short-term methotrexate.

\*FK was switched CyA in two patients in the course of the SCT procedure.

号：673)。対象患者の特徴を Table 1 に示す。男性 20 例，女性 20 例，平均年齢は 46.0±12.5 歳 (16~61 歳)であった。移植前の eGFR は 96.1±25.3 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>であった。軽症の高血圧と糖尿病がそれぞれ 4 例と 1 例に合併してい

た。移植幹細胞の種類は骨髄 (bone marrow : BM) が 34 例，臍帯血 (cord blood : CB) が 4 例，末梢血 (peripheral blood : PB) が 2 例であった。このうち，骨髄破壊的前処置で全身放射線照射 (total body irradiation : TBI) を受けたのは 21 例であった。GVHD 予防の種類は，「シクロスポリン (CyA) + 短期間メソトレキセート (MTX)」が 13 例，「タクロリムス (FK) + 短期間 MTX」が 29 例であった。2 例は副作用のため経過中に FK から CyA に変更された。

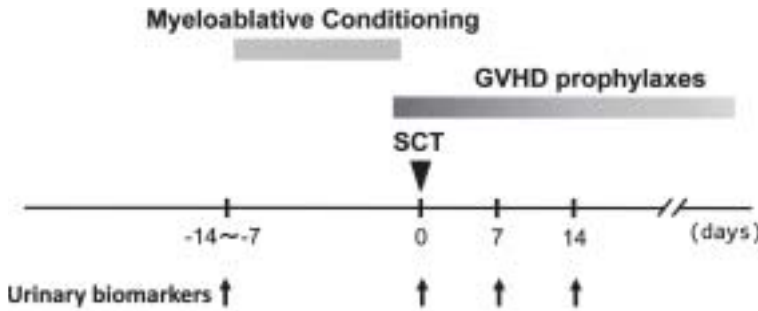
## 2. 方法

### 1) 当院における骨髄破壊的前処置による同種 SCT の標準的移植プロトコール

SCT は前処置，造血幹細胞移植，GVHD 予防の 3 つの段階に分けられる。一般的に前処置は骨髄破壊的前処置と非破壊的前処置に分けられるが，今回は骨髄破壊的前処置を受けた患者のみを対象とした。代表的な骨髄破壊的前処置は，原疾患に応じて「ブスルファン (BU) (3.2 mg/kg/日 静脈注射 4 日間) とシクロホスファミド (CY) (60 mg/kg/日 静脈注射 2 日間)」，または「シダラビン (CA) (2,000 mg/m<sup>2</sup>/回 3 日間で計 4 回静脈注射) と CY (60 mg/kg/日 静脈注射 2 日間) と TBI (4 Gy 3 日間，計 12 Gy)」が選択される。CY が使えない症例には代わりにメルファラン (MEL) が用いられる (今回は 3 例がそれに該当した)。その後，ドナーより採取された造血幹細胞が移植のため輸注される (day 0)。GVHD 予防として，day 1 より CyA (3 mg/kg/day) または FK (0.03 mg/kg/day) などのカルシニューリン阻害薬が持続静脈注射され，day 1, 3, 6, 11 に MTX 7 mg/m<sup>2</sup> (day 1 のみ 10 mg/m<sup>2</sup>) が投与される。症例に応じて CyA と FK 目標血中濃度は各々 450~550 ng/mL と 10~20 ng/mL に維持される。経過中出现した急性 GVHD は，プレドニン，カルシニューリン阻害薬の追加投与により治療される。感染予防のため，トスフロキサシン (TFLX) 300 mg/日，フルコナゾール (FLCZ) 100 mg/日，ST 合剤 1 錠/日 (連日投与) もしくは 3 錠/日 (隔日投与) が「前処置前から day 1 まで」と「生着後から免疫抑制薬終了まで」投与され，またアシクロビル (ACV) が day 5 から day 35 まで 750 mg/日 day 36 以降は 250 mg/日の用量で投与される。抗生物質投与に関しては，患者の状態に応じて適宜調整される。

### 2) 実験プロトコールと尿中バイオマーカーの測定法

実験プロトコールの概要を Fig. 1 に示した。尿中バイオマーカー測定用の検体は早朝中間尿を用い，移植前処置前 (pre)，移植当日 (SCT)，移植後 7 日 (day 7)，移植後 14 日 (day 14) の 4 つのタイムポイントで採取された。尿検体は採取後直ちに 2,000 回転で遠心され，沈殿物を除いた上清



**Fig. 1. General procedure of myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation**

Abbreviations : SCT, hematopoietic stem cell transplantation ; GVHD, graft versus host disease  
The arrows indicate the time-points for measuring urinary biomarkers.

を-80°Cで凍結保存した。

N-acetyl-β-glucosaminidase (NAG), β<sub>2</sub> microglobulin (β<sub>2</sub>M), α<sub>1</sub> microglobulin (α<sub>1</sub>M)の3種類の尿中濃度を以下の方法で測定し,尿流量の影響を考慮して同一尿中Cr濃度で補正した。NAGは酵素法(試薬:N-アッセイL NAG ニットーボー;ニットーボーメディカル株式会社,東京),β<sub>2</sub>Mは酵素免疫法(試薬:Eテスト「TOSOH」II BMG;東ソー株式会社,東京)により,機器H7700(株式会社日立ハイテクノロジーズ,東京)で測定された。α<sub>1</sub>Mはラテックス凝集法(試薬:LX試薬‘栄研’α<sub>1</sub>M-III;栄研化学)により,機器BIOMAJESTYJCA-BM8060(日本電子株式会社,東京)で測定された。これらの尿中バイオマーカーは同一検体において同時測定された。血中・尿中Crは酵素法で測定された。腎機能の指標はeGFRを用い,日本慢性腎臓病対策委員会の作成した推算式 eGFR (mL/min/1.73 m<sup>2</sup>) = 194 × Cr<sup>-1.094</sup> × Age<sup>-0.287</sup> (女性はこれに×0.739)により計算した<sup>15)</sup>。SCT後のAKIの定義は海外の既報論文とのデータ比較のため,「移植後100日以内に血清Cr値またはGFRが変化したもの」とし<sup>4)</sup>, Risk-Injury-Failure-Loss-End stage kidney disease (RIFLE)診断基準(Risk:血清Cr≥1.5倍上昇もしくはeGFR≥25%低下, Injury:血清Cr≥2倍上昇もしくはeGFR 50%≥低下, Failure:血清Cr≥3倍上昇もしくはeGFR 75%≥低下, Loss:4週間以上の完全な腎機能消失一腎代替療法, End-stage kidney disease:末期腎不全状態一腎代替療法)のうちeGFR変化の基準を用いて分類した<sup>8)</sup>。移植後40日未満にInjury, Failure, Lossを呈した症例は,移植後100日以内の早期死亡にかかわったことから「重症AKI群」とし,その他の症例(非AKI+非重症AKI)を「対象群」とした。高血圧は,収縮期血圧≥140 mmHgまたは拡張期血圧≥90 mmHg,もしくは降圧薬の使用と定義した。糖尿病は,これまでに糖尿病と診断されていること,もしくは血糖降下薬やインスリン使用のあることと定義した。

**Table 2. Incidence of AKI and mortality in myeloablative allogeneic SCT**

AKI by RIFLE criteria	Incidence	Mortality within day 100
Non AKI	12 (30.0 %)	0 (0 %)
Any AKI	28 (70.0 %)	4 (14.3 %)
Risk	10 (25.0 %)	0 (0 %)
Injury	7 (17.5 %)	1 (14.3 %)*
Failure	9 (22.5 %)	1 (11.1 %)*
Loss	2 (5.0 %)	2 (100 %)*

\*All dead cases had developed AKI ≥ Injury less than 40 days after SCT (range : 11~38 days).

### 3) 統計解析

データは断りのない限り平均値±標準偏差で表示し,対応のある2群間の比較はWilcoxon符号付順位和検定,独立した2群間の比較は,連続数はMann-Whitney U検定,比率はFisherの正確確率検定で行い, p<0.05を統計学的に有意と判定した。尿中バイオマーカー値によるAKI発症予測能はarea under the receiver operating characteristic (AuROC) curveで評価した。尿中バイオマーカー値とAKI発症の関連性については,まず,年齢,性別,合併症(糖尿病,高血圧),移植前血液学的寛解状態の有無(on diseaseか否か),各尿中バイオマーカー値を変数として単変量ロジスティック回帰分析を行い, p<0.10であった変数のみを用いた多変量ロジスティック分析モデルを作成して解析した。統計解析はソフトウェアJMP ver. 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA)を用いた。

## 結 果

### 1. RIFLEに基づくAKIの発症率とその死亡率

Table 2にRIFLE分類別のSCT後AKIの発症率と死亡率を示す。移植後AKIを発症したのは28例(70.0%)で,その内訳はRisk群:10例(25.0%), Injury群:7例

**Table 3. Comparisons of clinical characteristics between severe AKI and control group**

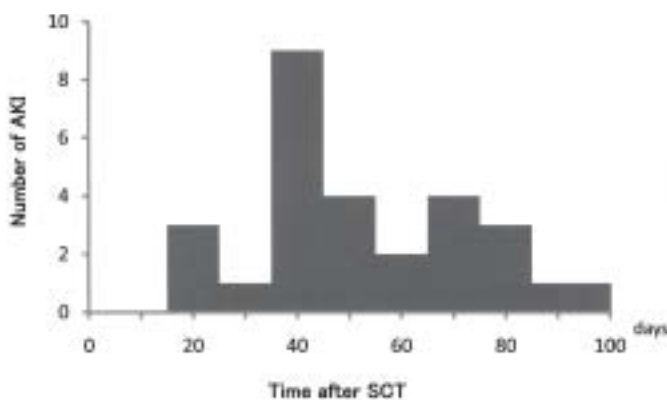
	Severe AKI group n=10	Control group n=30	p value
Mortality within 100 days, no. (%)	4 (40.0)	0 (0.0)	0.002*
Age, yr	50.6±7.62	44.7±13.6	0.332
Male, no. (%)	1 (10.0)	19 (63.3)	0.008
eGFR at baseline, mL/min/1.73 m <sup>2</sup>	101±31.1	94.6±23.6	0.708
Comorbidity, no. (%)			
Hypertension	2 (20.0)	2 (6.67)	0.256
Diabetes mellitus	0 (0.0)	1 (3.3)	1.000
Use of CY at preconditioning, no. (%)	9 (90.0)	28 (93.3)	1.000
Use of TBI at preconditioning, no. (%)	6 (60.0)	15 (50.0)	0.721
On disease at SCT, no. (%)	7 (70.0)	9 (30.0)	0.059
Previous SCT, no. (%)	1 (10.0)	3 (10.0)	1.000

Note : Severe AKI is defined as AKI  $\geq$  Injury that emerges less than 40 days after SCT.

Control group includes non-AKI and AKI  $\leq$  Risk.

\*Mortality of the severe AKI group is significantly higher, as compared with the control group.

Abbreviations : no, number ; CY, cyclophosphamide ; TBI, total body irradiation ; SCT, hematopoietic stem cell transplantation

**Fig. 2. Time distribution of AKI following SCT**

The median value of emergence of AKI is 43.5 days after SCT (range 11~97 days). The histogram shows 3 peaks at the time of 20, 40, 70 days after SCT.

Abbreviations : SCT, hematopoietic stem cell transplantation

(17.5%), Failure 群 : 9 例 (22.5%), 腎代替療法 (血液透析) を施行した Loss は 2 例 (5.0%) であった。AKI 発症の判定期間である移植後 100 日以内の早期死亡例は 4 例 (10.0%) あったが、これら死亡に至った患者は、いずれも移植後 40 日未満 (範囲 : 11~38 日) に重症 AKI (Injury : 1 例, Failure : 1 例, Loss : 2 例) を発症した「重症 AKI 群」に属しており、こうした AKI が患者の短期生命予後にかかわる可能性が明らかになった。Table 3 に重症 AKI 群と対照群の特徴を比較して示した。重症 AKI 群は SCT 後患者 10 例 (25.0%) に生じ、そのうち 4 例が移植後 100 日以内に死

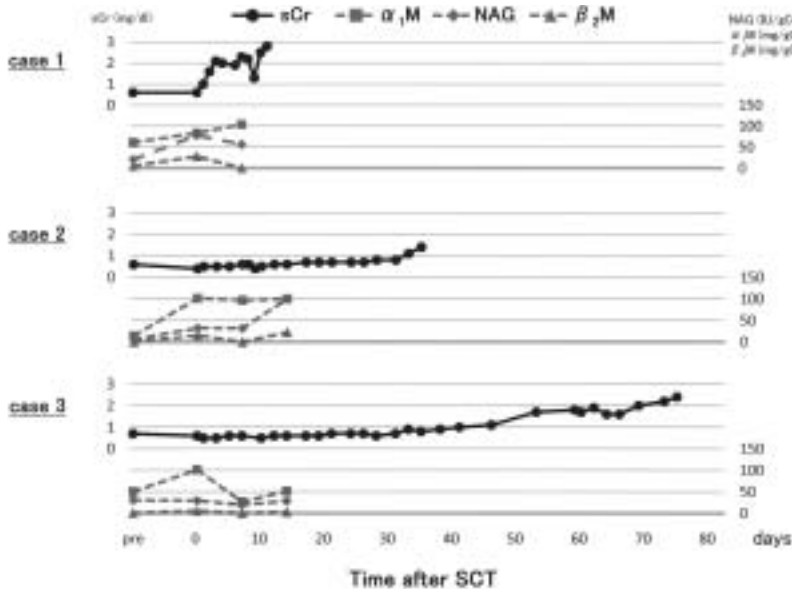
亡したが、対照群に死亡はなく、統計的に有意に死亡率が高いことがわかる ( $p=0.002$ )。2 群間で年齢, eGFR, 合併症 (糖尿病, 高血圧), 前処置プロトコール (CY 投与, TBI の有無), On disease 移植, 過去の SCT 歴に差はなかったが、女性比率に有意差がみられた ( $p=0.008$ )。なお、4 例の死亡例は、他臓器不全を合併し、呼吸不全合併 2 例、呼吸不全+敗血症性ショック合併 1 例、敗血症+多臓器不全合併 1 例で、また透析施行 2 例 (Loss) の死亡率は 100% であった。

## 2. AKI 発症時期と尿中バイオマーカー値の推移

各人の AKI の発症時期をヒストグラムで Fig. 2 に示す。発症日の中央値は移植後 43.5 日 (範囲 : 11~97 日) であった。このヒストグラムから、AKI の発症時期には 3 つのピーク (移植後 20 日, 40 日, 70 日前後) があると考えられ、各々を早期, 中期, 晩期とし、各々の代表例の尿中バイオマーカーと血清 Cr の推移を Fig. 3 に示した。いずれの AKI 発症例も移植当日に尿中バイオマーカーが急峻な上昇を示した。case 3 (晩期 AKI 発症) と比較すると、case 1 (早期 AKI 発症), case 2 (中期 AKI 発症) では  $\alpha_1\text{M}$  が移植日以降高値を持続するか、または漸増していることが特徴として認められた。

## 3. SCT 後 14 日間の腎機能の推移と尿中バイオマーカー値の変化

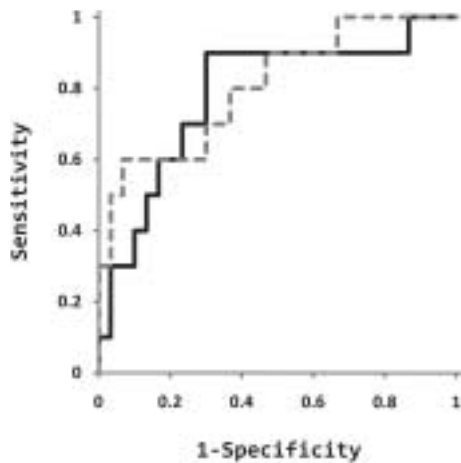
Fig. 4 に SCT 前後の eGFR と尿中バイオマーカーの変化を重症 AKI 群と対照群に層別して示す。打ち切り例は 1



**Fig. 3. Changes of serum Cr and urinary biomarker levels in 3 typical cases with different emergence time of AKI following SCT**

AKI developed 12 days after SCT in case 1, 35 days in case 2 and 78 days in case 3, respectively. While the serum Cr level remained constant, urinary  $\alpha_1M$  levels manifested the first peak at SCT in all cases. Furthermore, urinary  $\alpha_1M$  levels were followed by subsequent increases in cases 1 and 2 that developed AKI in early and middle phases following SCT.

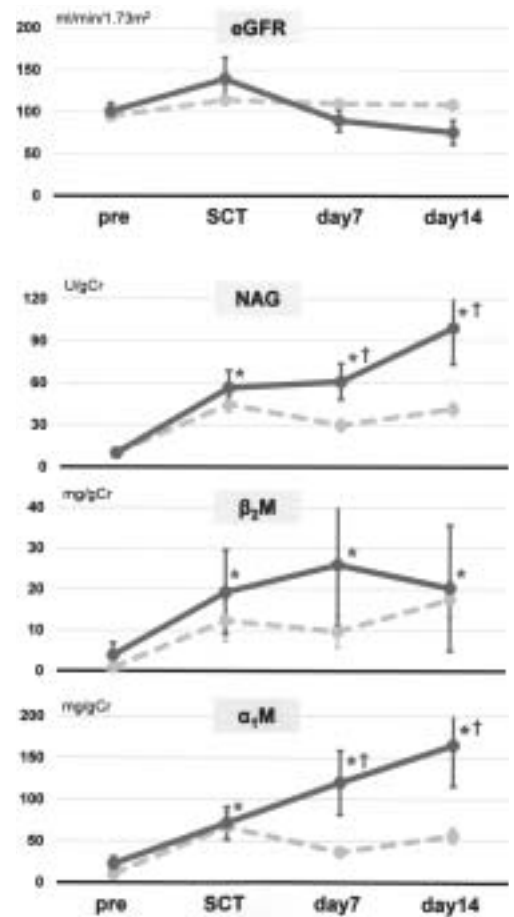
Abbreviations : SCT, hematopoietic stem cell transplantation ; NAG, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase ;  $\beta_2M$ ,  $\beta_2$  microglobulin ;  $\alpha_1M$ ,  $\alpha_1$  microglobulin



**Fig. 5. Area under the receiver operating curves for predicting the emergence of severe AKI**

Solid line represents NAG and the dashed line represents  $\alpha_1M$ . The cut-off values of NAG and  $\alpha_1M$  on day 7 were 31.5 IU/gCr (sensitivity 0.90, specificity 0.70) and 88.6 mg/gCr (sensitivity 0.60, specificity 0.93), respectively.

Abbreviations : NAG, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase ;  $\alpha_1M$ ,  $\alpha_1$  microglobulin



**Fig. 4. Changes in estimated GFR and urinary biomarkers before and after transplantation**

Data are shown as mean  $\pm$  standard error. Solid line represents the severe AKI group and the dashed line represents the control group. Asterisk (\*) indicates a significant difference ( $p < 0.01$ ) between the baseline and each time-point value in the severe AKI group.

Mark (†) indicates a significant difference ( $p < 0.05$ ) between the severe AKI and the opposite group at each time-point.

Abbreviations : SCT, hematopoietic stem cell transplantation ; eGFR, estimated glomerular filtration rate ; NAG, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase ;  $\beta_2M$ ,  $\beta_2$  microglobulin ;  $\alpha_1M$ ,  $\alpha_1$  microglobulin

例もなかった。eGFR は重症 AKI 群, 対照群ともバイオマーカー測定期間中有意に変化しなかった。重症 AKI 群ではいずれの尿中バイオマーカーとも経時的に漸増し, day 0 (移植日)から 1) 前処置前値に比して有意な上昇を示した(対照群での増加は有意ではなかった)。2) day 7 では NAG,  $\alpha_1M$  はともに対照群と比較しても有意差をもって上昇し, day 14 ではさらにその差が開いた(NAG day 7 :  $61.0 \pm 40.8$  IU/gCr versus  $29.8 \pm 22.2$  IU/gCr,  $p = 0.008$  ; NAG day 14 :  $99.3 \pm 78.1$  IU/gCr versus  $41.5 \pm 23.9$  IU/gCr,  $p = 0.007$  ;  $\alpha_1M$  day 7 :  $120.3 \pm 121.8$  mg/gCr versus  $36.7 \pm$

Table 4. Univariate and multivariate logistic regression analyses for severe AKI

Variable	Univariate		Multivariate	
	OR (95 % CI)	P value	OR (95 % CI)	P value
Gender male	0.064 (0.003-0.409)	0.002	0.117 (0.006-0.892)	0.038
On disease (+)	5.44 (1.22-30.1)	0.026	3.07 (0.466-22.9)	0.240
Log( $\alpha_1$ M at day 7)	27.4 (3.22-535)	0.001	18.4 (1.21-736)	0.035
Age years	1.05 (0.984-1.13)	0.156	—	—
Comorbidity (HT+ or DM+)	2.25 (0.262-16.0)	0.428	—	—

Abbreviations : OR, odds ratio ; CI, confidence interval ; HT, hypertension ; DM, diabetes mellitus.

32.8 mg/gCr,  $p=0.004$  ;  $\alpha_1$ M day 14 :  $165.2 \pm 148.2$  mg/gCr versus  $56.8 \pm 48.3$  mg/gCr,  $p=0.007$ 。しかし、 $\beta_2$ M は全期間において 2 群間で有意差を示さなかった。

#### 4. NAG, $\alpha_1$ M による重症 AKI 予測能

Day 7 の NAG 濃度、 $\alpha_1$ M 濃度が重症 AKI の発症を予測できるか否かを AuROC で評価した結果を Fig. 5 に示す。AuROC は NAG : 0.783 (95 % confidence interval (CI) : 0.611-0.966),  $\alpha_1$ M : 0.807 (95 % CI : 0.647-0.956) であり、これらのバイオマーカーの濃度は重症 AKI の発症を中等度以上の能力で有意に予測できる可能性をもつことがわかった。予測のためのバイオマーカー濃度の至適 cut-off 値はそれぞれ NAG 31.5 IU/gCr (感度 90 %, 特異度 60 %),  $\alpha_1$ M 88.6 mg/gCr (感度 60 %, 特異度 93 %) であった。

#### 5. 重症 AKI 発症と尿中バイオマーカーの関連性

重症 AKI の発症に対する移植後 7 日の  $\alpha_1$ M 値との関連を多変量ロジスティック回帰分析で解析した結果を Table 4 に示す。移植後 7 日の  $\alpha_1$ M 値は重症 AKI 発症と有意な関連(odds ratio [OR], 18.4 ; 95 % CI 1.21-736,  $p=0.035$ ) を示した。なお、移植後 7 日 NAG 値と重症 AKI 発症には統計学的な関連はみられなかった。

## 考 察

今回の前向きコホート研究により、骨髄破壊性同種 SCT 後 100 日以内での AKI 発症率と患者死亡率を明らかにできた。また、早期(SCT 後 < 40 日)かつ AKI  $\geq$  Injury の発症が患者の短期生命予後に関連する可能性を指摘できた。また、こうした移植後 AKI 群の発症を尿中バイオマーカーレベルで予測するためには、移植後 7 日目の  $\alpha_1$ M 値が最も有用である可能性が示された。

SCT 当日から全種類の尿中バイオマーカーが前処置前

に比べ有意に上昇していたことは、移植前処置が患者に顕在的な尿細管障害を生じさせる原因の一つである可能性を示すものである。この尿細管障害の程度の差がその後引き続く AKI の重症度に関係したことから、その差がなぜ生じるかについての検討は最も重要なことである。SCT 患者では移植に至るまでに数回繰り返される寛解導入療法、地固め療法といった白血病に対する抗癌薬治療により、移植に臨む前にも尿細管障害を繰り返している可能性はきわめて高い。こうした条件の違いが、移植前処置で腎毒性の高い薬剤の大量投与や TBI などに曝露されたときの尿中バイオマーカー上昇の高低に反映されるのではないかと推測するが、TBI や<sup>5,16)</sup>、これまでの移植回数と重症 AKI との関連性は認められなかった。また、移植後 7 日目の  $\alpha_1$ M と移植後 40 日間の CRP のピークには正の相関がみられた ( $r=0.329$ ,  $p=0.0382$ )。したがって、軽度腎障害 ( $\alpha_1$ M 上昇) が、感染症・敗血症、生着症候群、急性 GVHD に続く SIRS を引き起こしやすい状態を作る可能性があることも示唆された。

$\alpha_1$ M は NAG に比べ重症 AKI 予測の AuROC が高く、多変量解析でも重症 AKI 発症に対して有意な関連性が認められた。このことは、SCT という臨床条件下では、AKI 診断マーカーとして  $\alpha_1$ M は NAG に対して優位性をもつと考えられる。 $\alpha_1$ M は分子量 27~33 kDa の低分子蛋白で、主として肝臓で産生され血中に分泌される。糸球体を容易に通過し、近位尿細管細胞で再吸収、代謝され、尿細管機能が正常な場合はほとんど尿中に排泄されない<sup>17)</sup>。 $\alpha_1$ M は、高度の肝機能障害患者では産生低下により尿中濃度が低下することがあり<sup>18)</sup>、尿細管障害が過小評価されることがある点に注意が必要である以外、尿の保存状態、pH の影響を受けにくいなど、他のマーカーに比べ測定値の信頼性が高いとされる<sup>19)</sup>。今回の症例には、SCT におけ

る代表的な肝臓合併症で肝内血管の内皮障害の一つである肝中心静脈閉塞症(veno-occlusive disease : VOD)が3例含まれていたが、その3例とも尿中 $\alpha_1\text{M}$ 値を他の症例と比較しても有意な低値はみられなかった[ $\alpha_1\text{M}$  at day 7 : VOD(+) $98.0 \pm 76.1$  mg/gCr versus VOD(-) $54.2 \pm 74.6$  mg/gCr,  $p=0.158$ ]ことから、今回の結果に影響はなかったものと考えている。尿中 $\alpha_1\text{M}$ は古典的な尿細管障害のマーカーの一つとして現在も広く日常診療で利用されているが、AKIの早期診断のためのツールとしても最近その有用性が再評価されつつある。Devarajanらは、小児心臓手術後のAKI患者で早期に尿中 $\alpha_1\text{M}$ が上昇することを示し、mass spectrometry法により、尿中 $\alpha_1\text{M}$ が感度、特異度に優れたAKI発症予測のために有用なバイオマーカーの一つであることを報告している<sup>20)</sup>。またHerget-Rosenthalらは、急性尿細管壊死の患者において、その後の腎機能悪化(透析療法導入)を予測する因子として、 $\alpha_1\text{M}$ がNAGなどの尿細管逸脱酵素より優れていたことを報告している<sup>21)</sup>。今回の結果を含めて、現在臨床現場で測定可能な尿中バイオマーカーである $\alpha_1\text{M}$ の有用性が、種々のタイプのAKI発症に関してもさらに検討されることを提言する。

造血幹細胞移植期におけるAKIは、心臓手術後やICU入室患者のような、criticalな単回のイベントによる数時間から数日の血清Crの変化とは異なり、比較的軽微で断続的な腎障害による数日から週単位での変化である。つまり前処置の段階から、尿細管障害マーカーでは検知できるが血清Crの上昇(eGFRの低下)まできたすことのない軽微な腎障害が発生し、それが徐々に進展することにより、後の血清Crの上昇(eGFRの低下)をきたすものとする。また、本研究でeGFRが移植日を中心にむしろ上昇傾向を示したことについては、この時期の原疾患や放射線療法、化学療法などに関連した経口摂取低下、安静による筋肉量の低下からくるCr値の低下や、輸血製剤を含む比較的大量の補液による希釈性のCr濃度低下の影響があるかもしれない。さらには、統計学的有意差はないレベルではあるが、重症AKI群でよりeGFRが上昇していたが、AKIをごく早期に発症する症例では、移植前段階から体液貯留傾向を示す症例を経験することから、希釈性の血清Cr濃度の低下がこれに関係していたかもしれない。

今回の研究の限界として以下のものがあげられる。第一に、測定できる検体の数は倫理上の制限があったため、前処置前と移植後2週間以内であらかじめ設定した4つのタイムポイントのデータのみで行った。今回の結果からは、移植日前での尿中バイオマーカー測定ポイント数を増やす

ことにより、より早期にAKI発症予測に必要なデータを得られる可能性が示唆された。第二に、day7での $\alpha_1\text{M}$ による重症AKI発症予測能に関しては、新しいSCT患者のデータセットを用いて再現性や妥当性を評価する必要がある(validation study)。また、今回の多変量モデルでは、移植後7日の $\alpha_1\text{M}$ 値以外に性別(女性)が重症AKI発症に対する有意な関連因子であったが、移植前患者の病像や当院における前処置・移植方法に特別な男女差はなく、既報例においても男女差とAKI発症に言及したものはない。この点も別のデータセットで検証する必要があると考えられる。第三に、今回の研究ではneutrophil gelatinase-associated lipocalin(NGAL)、ヒトL型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)、シスタチンCなどの新規尿中バイオマーカーは測定していない。これは、本研究が通常医療施設で容易に測定できるバイオマーカーのうち、SCT後AKIを早期に診断するにあたって有用なものを決定することを目的としたためである。

## 結 語

同種SCT患者では骨髄破壊の前処置開始後からすでに種々の程度で尿細管障害が生じており、この障害の程度の相違がその後のAKI発症に関係があることが示された。移植後40日未満発症のAKI $\geq$ Injuryは患者の移植後早期死亡に関係する可能性があり、こうしたAKI群を発見するためには、移植後早期から尿中 $\alpha_1\text{M}$ 濃度の経時的測定が有用である。

## 謝 辞

本研究実施にあたり、多大なご協力をいただいた東京都立駒込病院血液内科 坂巻壽先生、秋山秀樹先生、大橋一輝先生に深謝致します。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

## 文 献

1. Parikh CR, Coca SG. Acute renal failure in hematopoietic cell transplantation. *Kidney Int* 2006 ; 69 : 430-435.
2. Zager RA. Acute renal failure in the setting of bone marrow transplantation. *Kidney Int* 1994 ; 46 : 1443-1458.
3. Hingorani SR, Guthrie K, Batchelder A, Schoch G, Aboulhosn N, Manchion J, McDonald GB. Acute renal failure after myeloablative hematopoietic cell transplant : incidence and risk factors. *Kidney Int* 2005 ; 67 : 272-277.
4. Parikh CR, McSweeney P, Schrier RW. Acute renal failure independently predicts mortality after myeloablative allogeneic



- hematopoietic cell transplant. *Kidney Int* 2005 ; 67 : 1999–2005.
5. Ellis MJ, Parikh CR, Inrig JK, Kanbay M, Patel UD. Chronic kidney disease after hematopoietic cell transplantation : A systematic review. *Am J Transplant* 2008 ; 8 : 2378–2390.
  6. Ando M, Ohashi K, Akiyama H, Sakamaki H, Morito T, Tsuchiya K, Nitta K. Chronic kidney disease in long-term survivors of myeloablative allogeneic haematopoietic cell transplantation : prevalence and risk factors. *Nephrol Dial Transplant* 2010 ; 25 : 278–282.
  7. Ando M, Mori J, Ohashi K, Akiyama H, Morito T, Tsuchiya K, Nitta K, Sakamaki H. A comparative assessment of the RIFLE, AKIN and conventional criteria for acute kidney injury after hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2010 ; 45 : 1427–1434.
  8. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, the ADQI workgroup. Acute renal failure—definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs : the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004 ; 8 : R204–R212.
  9. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A ; Acute Kidney Injury Network. Acute Kidney Injury Network : report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007 ; 11 : R31.
  10. Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, Parikh CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury : A systematic review. *Kidney Int* 2008 ; 73 : 1008–1016.
  11. Wu I, Parikh CR. Screening for kidney diseases : older measures versus novel biomarkers. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008 ; 3 : 1895–1901.
  12. McIlroy DR, Wagener G, Lee HT. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute kidney injury after cardiac surgery : the effect of baseline renal function on diagnostic performance. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010 ; 5 : 211–219.
  13. 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.
  14. Ho J, Lucy M, Krokhn O, Hayglass K, Pascoe E, Darroch G, Rush D, Nickerson P, Rigatto C, Reslerova M. Mass spectrometry-based proteomic analysis of urine in acute kidney injury following cardiopulmonary bypass : a nested case-control study. *Am J Kidney Dis* 2009 ; 53 : 584–595.
  15. Matsuo S, Imai E, Horio M, Yasuda Y, Tomita K, Nitta K, Yamagata K, Tomino Y, Yokoyama H, Hishida A ; Collaborators developing the Japanese equation for estimated GFR. Revised equations for estimated GFR from serum creatinine in Japan. *Am J Kidney Dis* 2009 ; 53 : 982–992.
  16. 安藤 稔, 中村裕也, 鈴木一恵, 澁谷あすか. 同種造血幹細胞移植成功者における慢性腎不全. *日腎会誌* 2008 ; 50 : 122–126.
  17. Lisowska-Myjak B. Serum and urinary biomarkers of acute kidney injury. *Blood Purif* 2010 ; 29 : 357–365.
  18. Penders J, Delanghe JR. Alpha 1-microglobulin : clinical laboratory aspects and applications. *Clin Chim Acta* 2004 ; 346 : 107–118.
  19. Vaidya VS, Ferguson MA, Bonventre JV. Biomarkers of acute kidney injury. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2008 ; 48 : 463–493.
  20. Devarajan P, Krawczeski CD, Nguyen MT, Kathman T, Wang Z, Parikh CR. Proteomic identification of early biomarkers of acute kidney injury after cardiac surgery in children. *Am J Kidney Dis* 2010 ; 56 : 632–642.
  21. Herget-Rosenthal S, Poppen D, Husing J, Marggraf G, Pietruck F, Jakob HG, Philipp T, Kribben A. Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis. *Clin Chem* 2004 ; 50 : 552–558.