

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 24 日現在

機関番号：33916
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23790967
 研究課題名(和文) 急性腎障害における肺腎相関の病態解明と診断マーカーとしてのミッドカインの臨床応用
 研究課題名(英文) Elucidation of the lung and kidney cross-talk in acute kidney injury (AKI) and evaluation of urinary midkine as a diagnostic marker of AKI.
 研究代表者
 林 宏樹 (HAYASHI HIROKI)
 藤田保健衛生大学・医学部・助教
 研究者番号：10378086

研究成果の概要(和文)：

ICU 患者 2582 例の後ろ向き研究で急性腎傷害 (AKI) の発症率は 30% と高頻度で、院内死亡に対して関連性がみられ、重症度に従ってオッズ比が上昇することを明らかにした。次に、気管支肺胞洗浄を行った重症呼吸不全 (ALI/ARDS) 52 例の検討で、AKI は肺局所でのケモカイン/サイトカインの dysregulation を介して、非心原性肺水腫に寄与する肺腎連関を示した。さらに AKI の早期診断のため、尿中ミッドカインの AKI バイオマーカーとしての有用性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：

We have retrospectively studied a cohort of 2579 patients admitted to the intensive care unit. The total AKI prevalence was 30% according to the AKIN criteria and after adjustment for covariates, AKIN stages remained independently associated with in-hospital mortality. An observational, retrospective analysis has been performed for 52 ALI/ARDS patients controlled by the noninvasive positive pressure ventilation (NPPV). Various cytokine levels were elevated in bronchoalveolar lavage from ALI/ARDS patients who developed AKI. These biomarkers were sensitive predictor of the NPPV failures. These findings strongly suggested the organ cross-talk between kidney and lung in ALI/ARDS. Finally we have confirmed the potential of urinary midkine as a novel biomarker for the early detection of AKI.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：腎臓学

1. 研究開始当初の背景

AKI (acute kidney injury) が社会や医療経済に与えるインパクトが欧米では十分認知され、AKI に関する研究も広く行われているが、日本人での AKI の発症率や死亡率などの報告はなされていない。

また CKD (慢性腎臓病) のみならず AKI でも腎と他臓器の cross-talk が認識され、動物実験では AKI にともない遠隔臓器である肺で

の水・Na チャネル異常や cytokine 依存性障害を生じる事が報告されている。しかしながら、AKI の実臨床における腎・肺連関に関する報告は乏しい。

ところでこの AKI はいまだに古典的なマーカーである Cr をもとに診断されているが、有意な Cr 上昇はイベント発症後 2, 3 日を要することから、診断時には介入のタイミングを逸していることが多く、その結果 ICU 領

域での死亡率はいまだに 50%にも及ぶ。研究代表者らは、早期介入を可能にする新たなバイオマーカーとしてミッドカインに注目してきた。ミッドカインは、ヘパリン結合性の成長因子であり、その発現は胎生期腎及び脳に特に強く、発生完了後いったん発現が減少する。しかし腎障害時には近位尿管を中心に戻り発現の増強が認められ、尿中排泄も増加する。腎虚血障害 (Sato W et al. J Immunol. 167, 34, 2001), 薬剤性腎障害 (Kawai H et al. Am J Pathol 8;28, 2004), 糖尿病性腎症 (Kosugi T et al. Am J Pathol 168, 9, 2006) など、種々の病態でマウス尿管上皮細胞にミッドカインが発現することから、尿管間質障害の common pathway で重要な位置を占めると想定されている。

2. 研究の目的

まず本邦における ICU 領域での, AKIN 分類に基づく AKI 発症率および予後を明らかにする。

次に, AKI 患者の死亡原因が腎不全にともなう溢水や尿毒症でなく, 多くは多臓器不全である事実から, AKI 発症時の臓器連関として肺に着目し, ALI/ARDS 症例の気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の様々なメディエーターを解析する。そして AKI の有無によるプロファイルの違いを示すことで, AKI の存在が非心原性肺水腫の病態である ALI/ARDS 症例の肺局所におよぼす影響を考察する。

さらに, かくある AKI を尿中のミッドカインで早期診断可能か否か検証する。

3. 研究の方法

(研究 1) 名古屋大学付属病院 ICU に 2005 年から 2009 年に入室した 3350 例の後ろ向き観察研究。

(研究 2) 公立陶生病院で非侵襲的陽圧呼吸管理 (NPPV) 導入となった ALI/ARDS 105 症例のうち, NPPV 導入 48 時間以内に気管支肺胞洗浄 (BAL) を施行した 52 症例を対象とする。NPPV 失敗 (気管内挿管への移行又は死亡) を臨床的なエンドポイントとして, 気管支肺胞洗浄液 (BALF) を解析し, AKI の有無によるプロファイルの違いを示す。

(研究 3) 種々の前向き AKI コホートで尿中ミッドカインを測定し, 診断能を比較検証する。

4. 研究成果

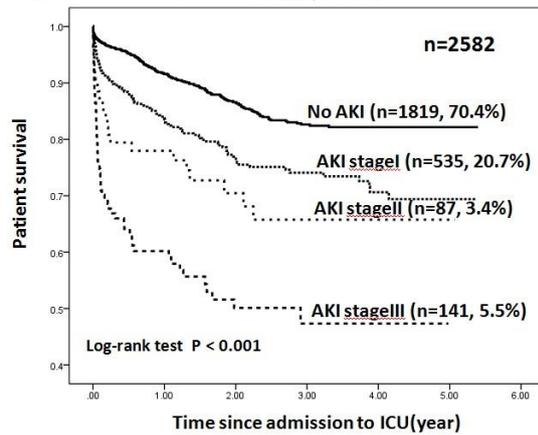
(研究 1)

対象症例 3350 例のうち, ICU 再入室, 15 才以下, 慢性維持透析, 在 ICU 日数 1 日未満, Cr 未測定 of 768 症例を除く 2582 症例を解析対象とした。

AKIN 分類に基づく AKI は 623 例 (30.7%) で発症し, ステージが進むにつれ短期・長期

予後とも悪化した (図 1)

図 1. AKI ステージ別生存曲線



(研究 2)

表 1.

Variables	non-AKI (n=28)	AKI (n=24)	p value
Activated Inflammatory cells			
Neutrophil, *10 ⁶ /mm ³	2.01 (0.27-8.45)	5.48 (1.51-18.63)	0.0017
macrophage, *10 ⁶ /mm ³	8.50 (3.93-16.99)	11.62 (7.15-17.16)	0.2120
Inflammatory Mediators			
TNF-α, pg/ml	2.03 (1.02-4.36)	4.79 (3.06-6.38)	0.0107
IL-1β, pg/ml	1.72 (0.80-2.01)	3.16 (0.80-7.66)	0.0311
IL-6, pg/ml	501.6 (80.0-3098.8)	4132.0 (1034.2-8878.0)	0.0012
IL-8, pg/ml	230.1 (121.1-685.0)	782.9 (372.5-2481.8)	0.0020
IL-18, pg/ml	156.6 (84.2-413.3)	280.4 (203.5-474.2)	0.0207
INF-γ, pg/ml	3.97 (2.01-13.75)	9.65 (6.37-15.19)	0.0107
MCP-1, pg/ml	827.7 (418.7-1805.8)	3196.0 (1171.6-8154.8)	0.0009
Inhibitors of Inflammatory Mediators			
IL-10, pg/ml	0.44 (0.44-0.44)	0.44 (0.44-1.34)	0.0236
Expression of activated adhesion molecules			
sICAM-1, ng/ml	76.0 (51.1-171.0)	141.5 (89.5-288.3)	0.0495
Endothelial injury			
TM, U/ml	3.83 (1.05-5.73)	4.36 (2.68-9.03)	0.0069
Dysregulated coagulation			
PAI-1, ng/ml	5.00 (5.00-17.75)	25.50 (7.00-41.25)	0.0052
Epithelial injury			
SP-D, ng/ml	617.5 (293.3-1585.0)	868.0 (493.8-1900.0)	0.2829
Increased capillary permeability			
Alb, mg/dl	41.2 (13.2-142.0)	67.0 (21.6-152.8)	0.0611

Data given as median (interquartile range)

表 2.

Predictors	HR	P-value	95% CI
AKI	2.63	0.02	1.17-5.93
Female	0.24	0.06	0.056-1.06
APACHE II score excluding kidney	1.11	0.03	1.01-1.22
log(SP-D)	2.86	0.03	1.13-7.26
log(IL-10)	1.59	0.01	1.11-2.26
log(ICAM-1)	0.39	0.07	0.13-1.09

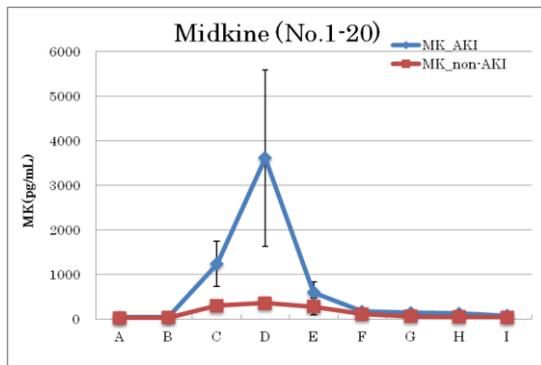
Abbreviations: HR, hazard ratio; CI, confidence interval.

ピークの Cr 値が高々 1.38 ± 0.63 mg/dl 程度の AKI 群で NPPV 失敗が有意に高率であった (83% vs 46%, p=0.014)。ALI/ARDS の誘因となった肺内・肺外の病因には両群で差を認めないにもかかわらず, 気管支肺胞洗浄液中の好中球は AKI 群で有意に増多しており, ケモカイン/サイトカインのプロファイルも大きく異なる (表 1)。

単変量解析では IL-6, IL-8, IL-10, IIFN-γ, MCP-1, PAI-1 が NPPV 失敗の有意な予測因子であったが, 臨床因子で調節した最良モデルでは, AKI, APACHE II スコア, IL-10, SP-D が NPPV 失敗の独立した予測因子であった (表 2)。

(研究 3)

図 2



ミッドカインのモノクローナル抗体でのアッセイ系を確立した後に、待機的に心臓・大血管手術を受ける非透析症例 20 例を対象に、経時的に随時尿採取を行いミッドカインを測定した。

AKI 症例では non-AKI 症例に比し術中 (C : 人工心肺離脱開始時/大血管デクランプ時, D: 1 時間後) から有意な尿中ミッドカインの上昇がみられた (図 2)。

(まとめ)

本邦でも ICU 領域での AKI 発症率は高く、短期・長期予後に関連する。

AKI は肺局所でのケモカイン/サイトカインの dysregulation を介して、非心原性肺水腫に寄与する肺腎連関を呈する。

尿中ミッドカインは AKI の早期診断マーカーとして有望である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

(1) Onishi A, Sugiyama D, Tsuji G, Nakazawa T, Kogata Y, Tsuda K, Naka I, Nishimura K, Misaki K, Kurimoto C, Hayashi H, Kageyama G, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, Kumagai S, Morinobu A. Mycophenolate mofetil versus intravenous cyclophosphamide for induction treatment of proliferative lupus nephritis in a Japanese population: a retrospective study. *Mod Rheumatol.* 2013 Jan;23(1):89-96.
doi: 10.1007/s10165-012-0634-9.

(2) Kanayama K, Ohashi A, Hasegawa M, Kondo F, Yamamoto Y, Sasaki M, Hayashi H, Kato M, Hattori R, Yamashita H, Arai J, Ishii J, Emi N, Yuzawa Y. Comparison of free light chain removal by four blood purification methods. *Ther Apher Dial.* 2011 Aug;15(4):394-9.
doi: 10.1111/j.1744-9987.2011.00964.x.

(3) Kasagi S, Saegusa J, Tsuji G, Sendo S, Miura N, Hayashi H, Sugimoto T, Kawano S, Nishida K, Kakutani K, Morinobu A, Kumagai S. Epidural spinal tumor and periaortitis as rare complications of Wegener's granulomatosis. *Mod Rheumatol.* 2011 Dec;21(6):678-83.
doi: 10.1007/s10165-011-0456-1.

(4) Morinobu A, Tsuji G, Kasagi S, Saegusa J, Hayashi H, Nakazawa T, Kogata Y, Misaki K, Nishimura K, Sendo S, Miura N, Kawano S, Kumagai S. Role of imaging studies in the diagnosis and evaluation of giant cell arteritis in Japanese: report of eight cases. *Mod Rheumatol.* 2011 Aug;21(4):391-6.
doi:10.1007/s10165-010-0408-1.

(5) 【急性腎障害(AKI)-概念の確認から、さらなる予後改善を目指して】《AKI と全身臓器》AKI と肺:湯澤 由紀夫, 長谷川 みどり, 林 宏樹:内科(0022-1961)110 巻 3 号 Page428-434(2012.09), 査読無

(6) 【AKI の管理 Q&A-救急・集中治療のための質問 237-】総論 多臓器不全を合併した AKI の診断は、どのようにしますか?(Q&A/特集): 林 宏樹, 湯澤 由紀夫:救急・集中治療(1346-0935)24 巻 3-4 Page281-290 (2012.04), 査読無

(7) Clinical nephrology 全身性疾患と腎障害 肺・腎連関:湯澤 由紀夫, 林 宏樹: Annual Review 腎臓 2012 巻 Page140-149(2012.01), 査読無

(8) 【AKI】 AKI の診断とバイオマーカー:湯澤 由紀夫, 林 宏樹:腎臓(0911-9752)34 巻 2 号 Page88-95(2011.11), 査読無

(9) 【ICU/CCU におけるステロイド使用の是非】急性腎傷害におけるステロイド使用の是非:林 宏樹, 湯澤 由紀夫:ICU と CCU (0389-1194)35 巻 8 号 Page649-656(2011.08), 査読無

(10) 【これから期待できるバイオマーカー】AKI におけるバイオマーカー:林 宏樹, 湯澤 由紀夫:腎と透析(0385-2156)70 巻 2 号 Page163-170(2011.02), 査読無

(11) 【急性腎障害(AKI)の診療】各論-機序 AKI における肺腎連関:林 宏樹, 湯澤 由紀夫: Modern Physician(0913-7963)31 巻 1 号 Page34-38(2011.01), 査読無

(12) Clinical nephrology 全身性疾患と腎障害 肺・腎連関:湯澤 由紀夫, 林 宏樹: Annual Review 腎 臓 2011 巻 Page189-198(2011.01), 査読無

[学会発表] (計9件)

① 湯澤 由紀夫, AKI のバイオマーカー, 第42回日本腎臓学会西部学術大会(招待講演), 2012年10月26日~2012年10月27日, 沖縄コンベンションセンター

② 新城 響, 集中治療患者において, 急性腎障害の診断基準である KDIGO 分類と AKIN 分類の比較, 第55回日本腎臓学会学術総会, 2012年06月01日~2012年06月03日, パシフィコ横浜

③ Hiroki Hayashi. Distant Effects of AKI on Lung Injuries by Soluble Mediators in Broncho-Alveolar Lavage Fluid in Patients with Acute Lung Injury / Acute Respiratory Distress Syndrome., ERA-EDTA Congress 2012, 2012年05月24日~2012年05月27日, Paris, France

④ 湯澤由紀夫, 腎肺連関 CKD及びAKIにおける腎と肺のクロストーク, 第41回日本腎臓学会東部学術大会(招待講演), 2011年10月14日, 京王プラザホテル(東京都)

⑤ 湯澤由紀夫, Critical Care Nephrologyの進歩 AKI の新規バイオマーカーの開発と治療への応用, 第56回日本透析医学会学術集会(招待講演), 2011年6月17日, パシフィコ横浜(神奈川県)

⑥ 林宏樹, 急性期の腎・肺相関(第2報) AKIがALI/ARDS症例の肺胞局所に及ぼす影響の検討, 第54回日本腎臓学会学術集会, 2011年6月15日, パシフィコ横浜(神奈川県)

⑦ 新城響, 当院集中治療室(ICU)における急性腎障害(AKI)について, 第54回日本腎臓学会学術集会, 2011年6月15日, パシフィコ横浜(神奈川県)

⑧ 湯澤由紀夫, AKIと多臓器連関, 第54回日本腎臓学会学術集会(招待講演), 2011年6月16日, パシフィコ横浜(神奈川県)

⑨ Hibiki Shinjo, A Comparison of the Acute Kidney Injury Network and Kidney Disease Improving Global Outcomes, Criteria for Acute Kidney Injury in Critically Ill Patients, ASN KIDNEY WEEK 2011 44th ANNUAL MEETING, 2011年11月11

日, Philadelphia, USA

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 宏樹 (HAYASHI HIROKI)
藤田保健衛生大学・医学部・助教
研究者番号: 10378086

(2) 研究協力者

湯澤 由紀夫 (YUZAWA YUKIO)
藤田保健衛生大学・医学部・教授
研究者番号: 00191479

丸山 彰一 (MARUYAMA SHOICHI)
名古屋大学大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 10362253

西村 邦宏 (NISHIMURA KUNIHIRO)
独立行政法人国立循環器病研究センター・室長
研究者番号: 70397834