

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659270

研究課題名(和文)尿中メガリンは腎組織血流障害における急性腎臓病(AKD)のマーカーとなり得るか

研究課題名(英文)Does urinary Megalin become the index of acute renal disease in the renal tissue blood circulation disorder?

研究代表者

高橋 昌(Takahashi, Masashi)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：30303150

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：心臓手術後の尿中マーカーを測定し、術後急性腎障害(AKI)の早期予測因子としての可能性を検討した。既存のマーカーとして低分子タンパクや細胞障害マーカー(NAG、NGAL)、新たなマーカーとして近位尿細管で多くのタンパク質の再吸収に関与するメガリンを検討した。AKIでは1ミクログロブリン、NAG、NGALが術後早期から高値を認めたが特異性は低く、特異性の高いマーカーもしくは組み合わせキットによる診断の必要性が示唆された。メガリンは測定条件により挙動が不安定であり継続的検討を要する。いずれのマーカーも、成人と小児ではその挙動が大きく異なり、腎機能の完成度を反映していると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We measured perioperative urinary biomarkers of the cardiac surgery and considered usefulness for early detection of acute kidney injury (AKI). As known biomarker, low molecular protein (albumin, arufa-1 microglobulin and beta-2 microglobulin) and cell injury marker (NAG and NGAL), as new biomarker megalin in which reabsorb many kinds of protein at proximal tubular cell were measured. Arufa-1 microglobulin, NAG and NGAL were significantly high score in AKI group but low specificity. It is expected for new marker which has higher specificity for AKI or the protocol of diagnosis AKI with the combination of plural markers. Megalin were not measured completely, it will need to consider in the future. This study also revealed that plural markers were different changes and value between adult and infants.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・病態検査学

キーワード：尿中バイオマーカー メガリン 急性腎障害 体外循環 心臓血管外科

1. 研究開始当初の背景

人工心肺下心臓手術は、低血圧、定常流、虚血再灌流、chemical mediator の惹起など、複数の急性腎障害(AKI)の誘因が存在する。人工心肺下心臓手術術後の急性腎障害(AKI)は、短期、長期の予後予測因子として注目されており、早期治療介入、予後改善のためには周術期の AKI 発症を早期に予測することが必要である。しかし、AKI 診断に用いられる「血清クレアチニン(Cre)の上昇」は腎機能障害の結果であり、すでに一定の障害が進行しているため、潜在的な腎機能障害を予測することはできない。早期予測因子として各種マーカーが検討されているが、未だ確定的なものはない。

2. 研究の目的

人工心肺下心臓手術の尿中バイオマーカーを定量し、術後 AKI の早期予測因子としての可能性を検討する。

既存の尿中バイオマーカーとして、低分子タンパク：アルブミン(Alb)、1 ミクログロブリン(1MG)、2 ミクログロブリン(2MG)、細胞障害マーカー：N-acetyl β-D glucosaminidase (NAG)、neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)を、新たな尿中バイオマーカーとして近位尿細管上皮細胞に存在し、糸球体で濾過された多数のタンパク等の再吸収に参与しているレセプタータンパク「メガリン」を定量し、その尿中動態、特徴を検討する。

また、新生児から乳児期早期は発達途上の腎の未熟性、脆弱性があり、各バイオマーカーの動態も成人とは異なると考えられ、成人と同時に論じることはできない。年齢層による尿中バイオマーカーの動態の違いを検討する。

3. 研究の方法

当科で施行した人工心肺下心臓手術を対象とし、新潟大学医学部倫理委員会の承認を得て、ヘルシンキ宣言に基づきあらかじめ研究の目的を説明の上、書面で同意を得た。

術前、術直後(集中治療室入室時)、第 1、2、3 病日の血清 Cre を測定した。術前、人工心肺離脱後 1、2、3、6、12、18、24 時間に尿検体を採取し、-80 で凍結の後、定量した。尿中バイオマーカーとして Alb、1MG、2MG、NGAL、NAG を定量した。尿の希釈による検査値(濃度)への影響を補正するため、尿中 Cre 補正值を用いて検討した。急性腎障害(AKI)は、AKIN の診断基準に基づき評価し、AKI 群(A 群)と非 AKI 群(N 群)に分け比較検討した。検討には Mann-Whitney 検定を用い、いずれも $p < 0.05$ をもって有意とした。年齢層は新生児期、乳幼児小児期、成人期に分けて検討した。

4. 研究成果

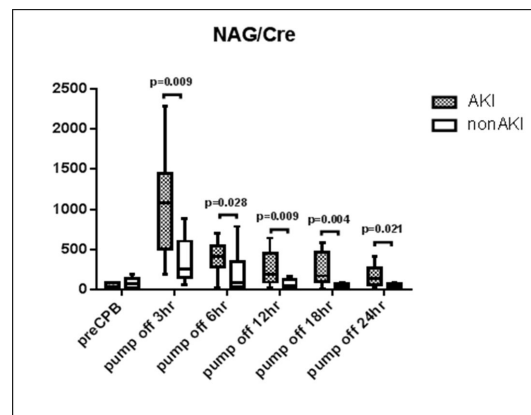
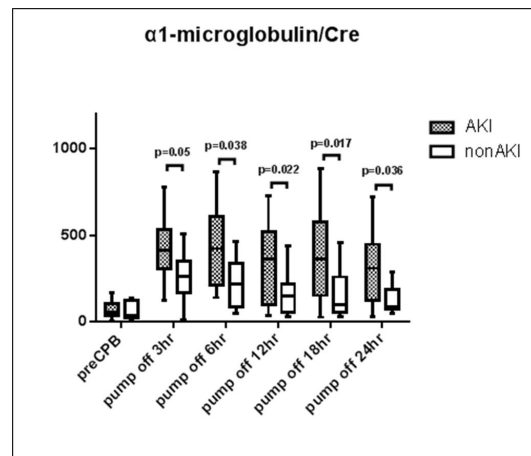
メガリンの定量は当初、加熱処理により行っ

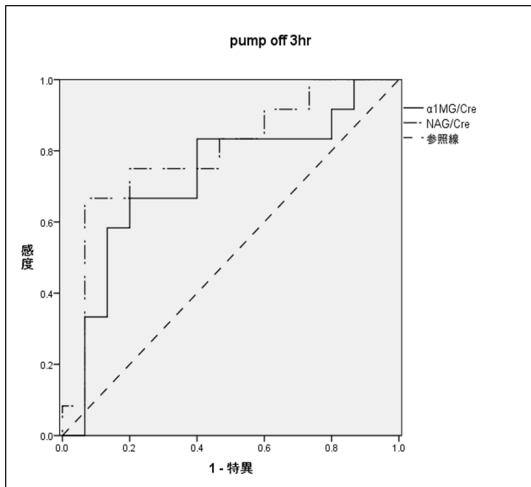
ていた、手技が煩雑で時間がかかり、結果にばらつきが生じ不安定であることから、還元処理による定量に変更した。これにより手技が簡便になり結果も安定した。定量方法の再検討を要したこと、加熱処理で定量した検体も還元処理で再定量したことから、尿中メガリンは、現在定量が進行中である。これまでの結果からは A 群で術前値が高い傾向があり、また、成人症例に比べて小児症例では高い値を示す傾向が認められた。今後定量が完了次第詳細な検討を要する。

その他の尿中バイオマーカーの結果について記載する。

(1) 新生児症例：

AKI 発症率は 46.4%。尿中 1M/Cre、NAG/Cre は、人工心肺離脱後 3 時間という早期から A 群で有意に高値を認めた。ROC-AUC 値(感度、特異度)は、尿中 NAG/Cre で人工心肺離脱後 3 時間:0.845(75%、75.7%)、6 時間:0.744(76.9%、73.3%)、12 時間:0.794(83.3%、66.7%)、尿中 1MG/Cre で人工心肺離脱後 3 時間:0.774(83.3%、64.3%)、6 時間 0.731(69.2%、73.3%)、12 時間:0.761(75%、63.3%)であった。尿中 NAG/Cre、尿中 1MG/Cre の二因子を組み合わせることで、人工心肺離脱後 3 時間の AUC 値 0.819、感度 83%、特異度 72% と診断精度を上げることができた。尿中 Alb/Cre、2MG/Cre、NGAL/Cre 値は両群間で統計学的有意差は認められなかった。

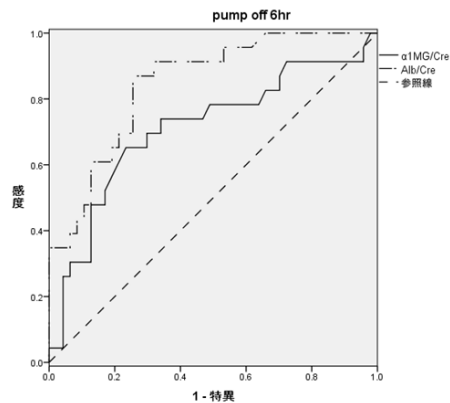
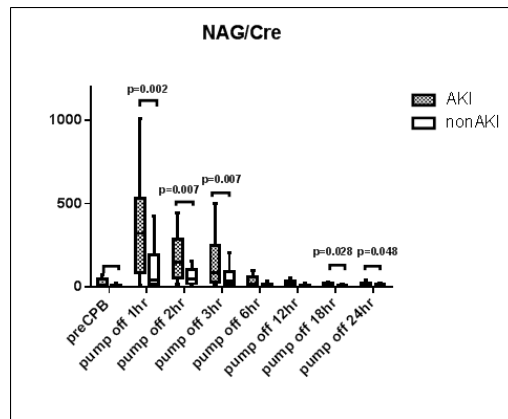
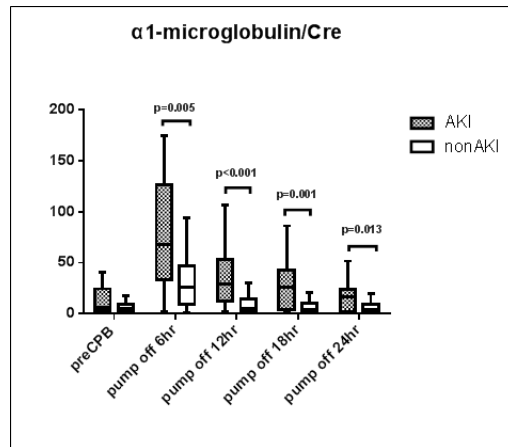
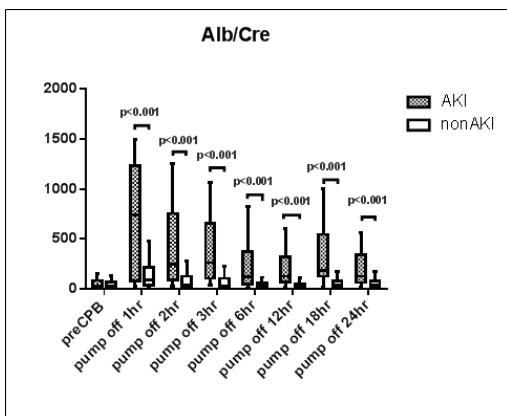




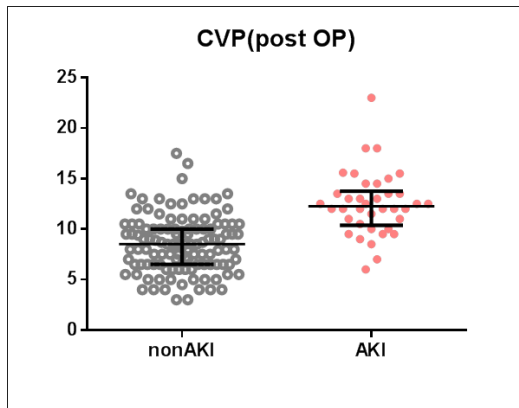
新生児期は在胎週数の違いによる腎の未熟性や、出生後の腎尿管機能の発達などにより正常でも血清 Cre 値の変動が大きい。さらに、新生児早期の血清 Cre 値は自身の腎機能ではなく、母体の血清 Cre 値を反映しているため、血清 Cre を用いた AKI 診断が難しい。今回の結果から、新生児期の腎機能評価に尿中バイオマーカーが有用であることが示唆され、尿中バイオマーカーを用いた新生児期腎機能診断の確立が期待される。

(2) 乳幼児小児症例 (~15 歳) :

AKI 発症率は 30%。A 群は有意に低年齢で、体格が小さかった。尿中 Alb/Cre、1MG/Cre、NAG/Cre で人工心肺離脱後 1~6 時間という早期から A 群で有意に高値を認めた。尿中 Alb/Cre の ROC-AUC 値(感度、特異度)は、人工心肺離脱後 3 時間: 0.832(78.3%、71.7%)、6 時間: 0.846(87%、74.5%)、12 時間: 0.845(78.3%、78.3%)と良好であった。尿中 1MG/Cre の ROC-AUC 値(感度、特異度)は、人工心肺離脱後 6 時間: 0.710(73.9%、66%)、12 時間: 0.759(73.9%、69.6%)であった。尿中 NAG/Cre は ROC-AUC 値(感度、特異度)は、人工心肺離脱後 1 時間: 0.714(73.7%、63.9%)、2 時間: 0.712(78.9%、63.6%)であった。より早期に尿中 NAG/Cre が、次いで尿中 1MG/Cre が A 群で有意に高値であった。尿中 NGAL/Cre は A 群で高値を示す傾向が認められたが、統計学的有意差は認められなかった。



この群において、AKI 発症率は特にファロー四徴症 50%、単心室系疾患の Fontan 手術 66.6%と高率であった。これらの疾患で高い AKI 発症を認めたことは、チアノーゼの腎機能障害への影響が示唆される。また、これらの疾患は術後の循環動態の維持に比較的高い中心静脈圧(CVP)を要することがあり、実際に A 群で術後 CVP が有意に高値であった ($p < 0.0001$)。本研究では A 群で尿中 Alb/Cre が人工心肺離脱後早期から有意に高値であり、高い CVP による腎うっ血、糸球体障害、糸球体灌流圧低下が Alb 漏出の背景にあると推察された。



(3) 成人症例：

AKI 発症率は 28.2%。A 群において術前血清 Cre が有意に高値($P < 0.004$)であり、術前からの腎機能障害が AKI 発症に影響することが示唆された。尿中 1MG/Cre、NGAL/Cre は人工心肺離脱後 3 時間という早期から A 群で有意に高値を認めたと、両群間での値のオーバーラップが大きく、感度特異度は低かった。成人症例では小児症例と異なり、慢性腎障害をはじめとして、高血圧、動脈硬化、糖尿病などの合併疾患が背景に存在することが多く、弁膜症、虚血性心疾患、大動脈疾患などでは術前の心不全の程度が大きく異なることが影響していると考えられる。今後、術前の腎機能や心不全を考慮した検討が必要である。

これまで、人工心肺下心臓手術の術後 AKI 早期予測因子として多数のマーカーが検討されてきた。特に NGAL の AKI 早期予測因子としての有用性が多数報告されているが、本研究では成人症例では A 群で有意に高値を認めたと、感度特異度は低かった。新生児、乳幼児小児症例では A 群で高値を示す傾向は認められたものの、統計学的有意差は認められなかった。これまでも、非常に有意であるとする論文がある一方で、有意差があっても感度特異度が低い論文報告も認められた。NGAL は腎機能障害以外の細胞障害や細菌感染、敗血症などでも誘導される。人工心肺下心臓手術では chemical mediator が惹起されることが知られており、それが腎障害以外での NGAL の上昇に影響している可能性がある。

尿中 1MG は各年齢層に共通して A 群での有意な高値が認められた。これは AKI における近位尿細管でのタンパク再吸収障害を示唆している。本研究で新たな尿中バイオマーカーとして注目したメガリンは近位尿細管で多数のタンパクの再吸収に関与しているレセプタータンパクであり、AKI の早期予測因子としての可能性が期待されるが、前述のように、定量は現在進行中であり今後の検討を要する。

また、年齢による腎機能の発達程度、腎障害のステージと尿中バイオマーカーには密接な関連があり、各マーカーにより動態が異なるため、単一因子ではなく、複数の因子の

組み合わせによる AKI 診断の確立も検討すべきである。

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 2 件)

新潟医学会雑誌 inpress

幼小児期の人工心肺下心臓手術における周術期急性腎障害発症予測因子としての尿中バイオマーカーの重要性

新潟大学大学院医歯学総合研究科 生体機能調節医学専攻 器官制御医学大講座 呼吸循環外科学分野

渡邊マヤ (査読有)

新潟医学会雑誌 inpress

新生児期人工心肺下心臓手術における術後急性腎機能障害発症予測因子としての尿中バイオマーカーの検討

新潟大学医歯学総合研究科呼吸循環外科学分野、機能分子医学講座*、新潟大学医歯学総合病院臨床工学部門**

渡邊マヤ、西塔毅**、高橋昌、土田正則、齋藤亮彦* (査読有)

[学会発表](計 4 件)

日本外科学会定期学術集会(2014 年 4 月 3 日)(京都市)

新生児期心臓手術の周術期腎機能評価における尿中バイオマーカーの有用性の検討 Usefulness of urinary biomarkers to predict acute kidney injury after cardiopulmonary bypass surgery in neonates.

新潟大学医歯学総合研究科呼吸循環外科学分野、機能分子医学講座*

渡邊マヤ、白石修一、高橋昌、土田正則、齋藤亮彦*

日本心臓血管外科学会定期学術集会(2014 年 2 月 19 日)(熊本市)

新生児期～乳児期の動脈単純遮断が腎機能に与える影響～尿中バイオマーカーの推移

The influence of aortic arch repair with simple aortic clamp on postoperative renal function and urinary biomarkers in neonates and infants.

新潟大学医歯学総合研究科呼吸循環外科学分野、機能分子医学講座*

渡邊マヤ、白石修一、高橋昌、土田正則、齋藤亮彦*

日本胸部外科学会定期学術集会(2013 年 10 月 18 日)(仙台市)

新生児・乳幼児の人工心肺周術期の急性腎障害(AKI)発症予測因子の検討～尿中バイオマーカーは AKI 発症の予測因子となりえるか Perioperative urinary biomarkers predict acute kidney injury after cardiopulmonary

bypass surgery in neonates and infants.
新潟大学医歯学総合研究科呼吸循環外科学
分野、機能分子医学講座*
渡邊マヤ、白石修一、高橋昌、土田正則、齋
藤亮彦*

研究者番号： 80293207

日本胸部外科学会定期学術集会(2013年
10月17日)(仙台市)
成人人工心肺周術期の急性腎障害(AKI)発
症予測因子の検討～尿中バイオマーカーは
AKI発症の予測因子となりえるか
Perioperative urinary biomarkers may
predict acute kidney injury after
cardiopulmonary bypass surgery in adult
cases.

新潟大学医歯学総合研究科呼吸循環外科学
分野、機能分子医学講座*
高橋昌、渡邊マヤ、杉本愛、白石修一、土田
正則、齋藤亮彦*

〔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

高橋 昌 (TAKAHASHI MASASHI)
新潟大学・医歯学系・准教授
研究者番号：30303150

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

齋藤 亮彦 (SAITOH AKIHIKO)
新潟大学・医歯学系・特任教授