

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461627

研究課題名(和文) 小児期急性腎障害(AKI)後の慢性腎臓病(CKD)への進展に関する基礎的検討

研究課題名(英文) The study of the progression of acute kidney injury (AKI) to chronic kidney disease (CKD) in childhood.

研究代表者

西田 眞佐志 (NISHIDA, MASASHI)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：50275202

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：6歳以上の先天性心疾患患児38名において、造影剤投与前後で腎障害マーカーを検討し、心疾患手術後の急性腎障害(AKI)既往群(11名)とAKI非既往群(27名)について比較した。AKI既往者では、明らかな腎機能低下や尿蛋白の出現はみられなかったものの、尿中アルブミンの上昇が認められ、造影剤投与後の尿中L-FABP(L型脂肪酸結合蛋白)および尿中2-ミクログロブリンの上昇もAKI非既往者と比べてより顕著であった。これらの結果より、AKI既往者では潜在的な尿細管予備能の低下や糸球体障害が存在すると考えられ、薬剤や虚血などのストレスが加わることにより慢性腎臓病(CKD)への進展要因となり得る。

研究成果の概要(英文)：We studied renal function in 38 children with congenital heart disease aged more than 6 years, and compared those with the history of acute kidney injury (AKI) following cardiac operation to those without the history of AKI. In patients with the history of AKI, although neither the deterioration of renal function nor proteinuria was evident, albuminuria was noted, and marked elevation of both urinary L-type fatty acid-binding protein (L-FABP) and urinary 2-microglobulin was observed following the administration of contrast agent. These data suggested the existence of latent disorder of glomerular and tubular function in these patients, which may lead to chronic kidney disease (CKD) with the insult to the kidney, such as the drug and the ischemia.

研究分野：小児腎臓病学

キーワード：先天性心疾患 急性腎障害 慢性腎臓病 腎機能 尿中アルブミン 尿中L型脂肪酸結合蛋白 尿中2-ミクログロブリン

## 1. 研究開始当初の背景

CKD (慢性腎臓病) の概念は 2002 年に米国において提唱され、従来の狭義の腎疾患だけではなくさらに広い病態あるいは症候を含み、慢性に経過するすべての腎臓病を指す。我が国においてもその患者数は 1,330 万人と成人の 8 人に 1 人は CKD であり、CKD は新たな国民病となっている。この概念が提唱された背景として、CKD から透析療法が必要となる末期腎不全へと進行する患者が著しく増え、医療費を圧迫し、また CKD 患者では心血管疾患の併発が多く、対策が必要なことがわかってきたことなどがあげられる。これらの背景より、CKD を早期に発見し、評価し、必要があれば適切な治療介入により、心血管疾患発症や末期腎不全への移行を抑制することが急務となっている。

一方、小児期における CKD 診療の重要な課題として、成人期の CKD 発症に小児期における種々の問題が深く関わっていることが明らかとなっており、これらをふまえ将来の CKD 発症を見据えた小児期の医療管理が益々重要となってきた。例えば、近年周産期医療の進歩により、早期産児や超低出生体重児の survivor が増加し成人期を迎えているが、これらの児では生下時より腎における糸球体数 (ネフロン数) が著明に減少していることが明らかとなっており、学童期後期以降に蛋白尿や腎機能障害を発症する症例の報告が増加しており、将来の高血圧や CKD の進展、成人病の high risk group となっている。

さらに将来の CKD 発症の重要な risk として、小児期発症の AKI (急性腎障害) が挙げられる。従来は AKI を発症しその後回復した患者では、腎障害発症前の状態にまでほぼ完全に近い回復を遂げると考えられてきた。その根拠としていくつかの AKI 罹患後の患者の追跡調査の結果があり、Liano らは急性尿細管壊死を来し回復した 187 例の患者の追跡調査で、10 年後の腎機能はほぼ問題のないものであったと報告した (Kidney Int 2007)。しかしながら 2008 年以降今日まで、種々の原因による AKI 後の患者についてさまざまな大規模研究の結果が報告され、AKI 後の患者は将来 CKD に移行する有意な risk を有していることが明らかとなってきた。すなわち、Chawla らは 5351 例の AKI 患者のうち、発症時に血清 Cr が高値であった群では 1-5 年後に腎機能の悪化を認めたと報告した (Kidney Int 2011)。Lo らは AKI 時に透析を要した症例ではその後に CKI に進展する risk が増大することを報告した (Kidney Int 2009)。これらの結果は、小児期における AKI がその後の腎機能に重大な影響を及ぼす可能性を示している。特に前述の早期産児や超低出生体重児では出生時仮死を合併することも多く、このような症例では出生時に腎虚血により急性腎不全を呈することもしばしば経験される。すなわち、たとえ出生時の AKI より回

復したとしても、出生時よりのネフロン数の減少に加え、AKI の既往という将来的な CKD 進展への更なる risk を負うことになる。その他にも、近年の小児医療の進歩に伴い、腎毒性を持つ薬剤治療歴のある小児癌患者や幹細胞移植による AKI の既往のある患児、心疾患術後などで AKI の既往のある患児など小児における AKI の頻度は益々増加傾向にあり、これらの患児に対し早期からの治療的介入により将来の CKD への移行や末期腎不全への進展を未然に防ぐことは今後益々重要な課題になると考えられる。

このような AKI 後の CKD への進展機序については、従来より動物実験などにより検討されており、AKI からの CKD への進展には、AKI 時の傷害によるネフロン数の減少と糸球体における過剰濾過、間質の炎症と線維化、血管内皮障害や血管密度低下による血流障害、細胞周期の異常による尿細管上皮の修復過程の障害や炎症、線維化の惹起などの関与が考えられている。しかし、その詳細については不明な点が多く、AKI 後の適切な管理体制や治療法についても明らかではない。

## 2. 研究の目的

以上の背景より、本研究ではマウス AKI モデルを用いた腎の組織学的検索、および AKI 既往患者における尿中腎障害バイオマーカーの動態などにより、AKI 後の腎障害の進展の機序について考察し、AKI 後の適切な管理体制や治療法の確立に寄与することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) マウス AKI モデルを用いた検討

若年雄性マウス (生後 10-12 週、体重 20-24g、C57BL/6) を用い、生理食塩液 0.5ml に溶解したシスプラチン (15mg/kg) を皮下投与することにより、AKI を誘発した。血中尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr) を投与前および投与後 24 時間 (h)、48h、96h に測定し、また投与後 96h に腎摘出を行い、PAS 染色による腎の組織学的検索を行った。また AKI 後の腎細胞の修復につき評価するため、腎摘出の 1 時間前に bromodeoxyuridine (BrdU) (50mg/kg) を腹腔内投与し、BrdU 染色により DNA 合成につき検討した。

### (2) AKI 既往患者における尿中腎障害バイオマーカーの動態

6 歳以上の先天性心疾患患児 (CHD 児) において、心臓カテーテル検査 (心カテ) 時に、造影剤投与前後で Cr-eGFR、CysC-eGFR、尿蛋白、尿中アルブミン (alb)、尿中 L-FABP (L 型脂脂肪酸結合蛋白)、尿中 2-ミクログロブリン (BMG)、尿中 N-アセチル-β-D-グルコサミニダーゼ (NAG) 値を測定し、乳児～幼児期の心疾患に対する手術後に AKI を合併した群 (術後 48 時間以内に血清 Cr が前値の 2 倍以上に増加し、3 日以上持続したもの) (AKI 既往群) と AKI 非既往群について比較検討し

た。対象は、38名(男児20名、女児18名)、年齢:6歳~20歳(平均10.0歳)、AKI既往群11名、AKI非既往群27名であった。

#### 4. 研究成果

##### (1) 結果

###### マウス AKI モデルを用いた検討

シスプラチン投与により、投与後96hでは生理食塩液のみ投与したコントロール群と比べ著明な血中BUN、Crの上昇を認め、AKIが誘発された(投与後24h:BUN $24 \pm 1$  mg/dl, Cr $0.08 \pm 0.01$  mg/dl, n=6)(投与後48h:BUN $42 \pm 3$  mg/dl, Cr $0.16 \pm 0.02$  mg/dl, n=6)(投与後96h:BUN $221 \pm 14$  mg/dl, Cr $1.25 \pm 0.13$  mg/dl, n=17)(コントロール群:BUN $23 \pm 2$  mg/dl, Cr $0.07 \pm 0.02$  mg/dl, n=5)。PAS染色による組織学的検索では、投与後96hで腎皮質と髄質外層部において尿細管細胞の著明な壊死と脱落を認め、急性尿細管壊死像を呈していた。BrdUラベルによる尿細管細胞の修復についての評価では、BrdU陽性尿細管細胞は全尿細管細胞の $0.79 \pm 0.08\%$ と低値であり、この時点で急性尿細管壊死に対する修復機転は明らかではなかった。

AKI既往患者における尿中腎障害バイオマーカーの動態

Cr-eGFR: AKI既往群ではカテ前で $72.2-147.8$  ml/min/1.73m<sup>2</sup> (mean 109.8, n=11)、カテ後24hで $75.0-147.8$  (mean 99.7, n=11)、AKI非既往群ではカテ前で $72.2-147.8$  ml/min/1.73m<sup>2</sup> (mean 112.7, n=27)、カテ後24hで $65.1-166.9$  (mean 112.4, n=27)であり、カテ前、カテ後24hともAKI既往群と非既往群の間に有意差は認めず、またいずれの群もカテ前後で有意な変動を認めなかった。CysC-eGFR: AKI既往群ではカテ前で $97.4-138.8$  ml/min/1.73m<sup>2</sup> (mean 114.9, n=11)、カテ後24hで $101.8-140.9$  (mean 113.3, n=11)、AKI非既往群ではカテ前で $66.4-145.3$  ml/min/1.73m<sup>2</sup> (mean 111.0, n=26)、カテ後24hで $67.6-160.1$  (mean 109.1, n=24)であり、カテ前、カテ後24hともAKI既往群と非既往群の間に有意差は認めず、またいずれの群もカテ前後で有意な変動を認めなかった。また、全測定を通じて、Cr-eGFR、CysC-eGFRのいずれもが $90$  ml/min/1.73m<sup>2</sup>以下であった。尿蛋白: AKI既往群ではカテ前で $0.06-0.19$  g/gCr (mean 0.11, n=11)、カテ後24hで $0.05-0.30$  (mean 0.14, n=11)、カテ後14日以降で $0.04-0.17$  (mean 0.10, n=9)、AKI非既往群ではカテ前で $0.03-0.16$  g/gCr (mean 0.06, n=27)、カテ後24hで $0.03-0.70$  (mean 0.10, n=23)、カテ後14日以降で $0.02-0.12$  (mean 0.07, n=15)であり、カテ前、カテ後24h、カテ後14日以降のいずれもAKI既往群と非既往群の間に有意差は認めず、またいず

れの群もカテ前、カテ後24h、カテ後14日以降で有意な変動を認めなかった。また、カテ後24hで尿蛋白が $0.2$ g/gCr以上であった症例はAKI既往群で2例、AKI非既往群で1例認められたが、いずれの症例も、カテ前、カテ後14日以降では $0.2$ g/gCr以下であった。

尿中alb: AKI既往群ではカテ前で $9.9-94.2$  mg/gCr (mean 31.1, n=11)(基準値 $10.0$  mg/gCr以下)、カテ後24hで $6.9-114.0$  (mean 41.4, n=11)、カテ後14日以降で $7.4-72.6$  (mean 29.2, n=9)、AKI非既往群ではカテ前で $1.9-50.7$  mg/gCr (mean 14.9, n=27)、カテ後24hで $2.2-399.0$  (mean 27.2, n=23)、カテ後14日以降で $1.9-42.7$  (mean 14.4, n=15)であり、AKI既往群、非既往群ともカテ前、カテ後24h、カテ後14日以降で有意な変動を認めなかったが、カテ前、カテ後24h、カテ後14日以降でいずれもAKI既往群ではAKI非既往群に比べて有意に高値であった(カテ前:P=0.006、カテ後24h:P=0.008、カテ後14日以降:P=0.034)。

尿中L-FABP: AKI既往群ではカテ前で $1.2-6.4$   $\mu$ g/gCr (mean 4.7, n=11)(基準値 $8.4$   $\mu$ g/gCr以下)、カテ後24hで $6.9-110.1$  (mean 34.5, n=11)、カテ後14日以降で $0.5-5.2$  (mean 3.6, n=9)、AKI非既往群ではカテ前で $1.1-8.2$   $\mu$ g/gCr (mean 2.6, n=27)、カテ後24hで $2.2-98.7$  (mean 16.5, n=23)、カテ後14日以降で $1.3-7.4$  (mean 3.2, n=15)であり、AKI既往群、非既往群ともカテ後24hではカテ前に比べて有意に増加したが(AKI既往群:P<0.01、非既往群:P<0.01)、これらはいずれもカテ後14日以降ではカテ前値に回復した。またAKI既往群ではAKI非既往群に比べてカテ前およびカテ後24hで有意に高値であった(カテ前:P=0.005、カテ後24h:P=0.013)。

尿中BMG: AKI既往群ではカテ前で $33.3-488.1$   $\mu$ g/gCr (mean 210.6, n=11)(基準値 $206$   $\mu$ g/gCr以下)、カテ後24hで $130.4-2558.9$  (mean 660.5, n=11)、カテ後14日以降で $52.3-308.7$  (mean 168.5, n=10)、AKI非既往群ではカテ前で $7.2-669.3$   $\mu$ g/gCr (mean 148.8, n=27)、カテ後24hで $16.6-990.1$  (mean 202.2, n=23)、カテ後14日以降で $23.7-238.7$  (mean 93.4, n=15)であり、カテ後24hではAKI既往群ではAKI非既往群に比べて有意に高値であった(P=0.003)。またAKI既往群ではカテ後24hでカテ前に比べて高値をとる傾向がみられたが、カテ後14日以降では前値に回復した。

尿中NAG: AKI既往群ではカテ前で $1.2-21.1$  U/gCr (mean 6.0, n=11)(基準値 $10.8$  U/gCr以下)、カテ後24hで $3.2-28.2$  (mean 14.7, n=11)、カテ後14日以降で $2.3-18.3$  (mean 7.3, n=10)、AKI非既往群ではカテ前で $1.6-10.0$  U/gCr (mean 4.5, n=27)、カテ後24hで $1.8-68.0$  (mean 10.8, n=23)、カテ後14日以降で $1.3-8.2$  (mean 4.2, n=15)であり、AKI既往群、非既往群ともカテ後24hではカテ前

に比べて有意に高値であった (AKI 既往群:P<0.05、非既往群:P<0.05)。AKI 既往群と非既往群の間ではカテ前、カテ後 24h、カテ後 14 日以降のいずれも有意差は認めなかった。

## (2) 考察

今回は、マウス AKI モデルを用いた検討では AKI 後短期間での検討にとどまったが、CHD 児における心カテ検査前後での尿中腎障害バイオマーカーの動態の検討では、AKI 既往者では AKI 後数年以上が経過しており、AKI 非既往者と比較することにより、AKI 後の CKD の進行への関与を示唆する所見が得られた。すなわち AKI 既往者でも、非既往者と比べて、明らかな腎機能の低下や尿蛋白の出現はみられず、これらのパラメーターでは造影剤投与による増悪もなかったが、尿中 alb については心カテ検査前後のいずれの時点でも AKI 既往者では非既往者と比べて明らかな上昇が認められており、AKI 既往者における潜在的な糸球体障害の存在を示唆しているものと思われる。さらに尿中 L-FABP については、心カテ検査 24h 後で AKI 既往者、非既往者とも有意な増加が認められ、造影剤投与による尿細管への微小循環障害などのストレスを反映しているものと考えられるが、その増加の程度は AKI 既往者でより顕著であり、AKI 既往者では造影剤投与などのストレスにより明らかになる潜在的な尿細管予備能の低下が存在するのではないかと考えられる。これは AKI に伴う急性尿細管壊死の後に誘導される尿細管の再生、修復過程において、その後に残る尿細管の短縮や尿細管周囲の線維化などの不完全な修復を反映している可能性も考えられる。尿中 L-FABP と同様に尿中 BMG についても、心カテ検査 24h 後の増加は AKI 既往者では非既往者と比べてより顕著であり、造影剤投与によるストレスにより、AKI 既往者では明らかな尿細管機能障害が誘発される。尿中 NAG については AKI 既往者、非既往者とも心カテ検査 24h 後で一過性の上昇がみられ、AKI 既往者と非既往者で有意差はなかったが、尿中 L-FABP や尿中 BMG の上昇に示されるような AKI 既往者における尿細管の予備能の低下は、AKI 後の薬剤や虚血などの尿細管に対するストレスが繰り返されることにより、さらに徐々に進行していく可能性も考えられる。同時に尿中 alb の増加に示されるような糸球体障害や尿細管障害も惹起され、さらに将来的には尿蛋白の出現や腎機能低下に至る CKD へのハイリスク群となり得るかもしれない。これらの患児では、今後も長期にわたって腎機能や尿中腎障害バイオマーカーなどをフォローしていく必要性が示唆される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Nishida M, Hashimoto F, Kaito H, Nozu K, Iijima K, Asada D, Hamaoka K.

Combined Alport syndrome and Klinefelter syndrome. *Pediatr Int* 2016;58:152-155. (査読有)  
doi:10.1111/ped.12743.

Nishida M, Kato R, Hamaoka K. Coexisting membranous nephropathy and IgA nephropathy. *Fetal Pediatr Pathol* 2015;34:351-354. (査読有)  
doi:10.3109/15513815.2015.1087607.

Nishida M, Morimoto M, Ohno K, Hamaoka K. IgA nephropathy in a girl with mitochondrial disease. *Pediatr Int* 2015;57:e50-52. (査読有)  
doi:10.1111/ped.12540.

Nishida M, Kosaka K, Hasegawa K, Nishikawa K, Itoi T, Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H, Hamaoka K. A case of Fabry nephropathy with histological features of oligonephropathy. *Eur J Pediatr* 2014;173:1111-1114. (査読有)  
doi:10.1007/s00431-013-2118-0.

〔学会発表〕(計 5 件)

西田眞佐志、西川幸佑、森下祐馬、久保慎吾、河井容子、中川由美、池田和幸、糸井利幸、瀧岡建城：先天性心疾患患児における腎機能と心臓カテテル検査後の腎障害マーカーの推移、第 50 回日本小児腎臓病学会、2015.6.18-20. 神戸

西田眞佐志、西川幸佑、森下祐馬、久保慎吾、河井容子、中川由美、池田和幸、糸井利幸、瀧岡建城：先天性心疾患患児における心臓カテテル検査前後での腎障害マーカーの推移、第 58 回日本腎臓病学会、2015.6.5-7. 名古屋

西田眞佐志、糸井利幸、瀧岡建城、森本昌史、木崎善郎、奥村保子、大前禎毅、大野邦彦：腎症状を伴ったミトコンドリア異常症の検討、第 57 回日本腎臓病学会、2014.7.4-6. 横浜

西田眞佐志、糸井利幸、瀧岡建城、森本昌史、木崎善郎、奥村保子、大前禎毅、大野邦彦：腎症状を呈したミトコンドリア異常症の 3 例、第 49 回日本小児腎臓病学会、2014.6.5-7. 秋田

西田眞佐志、西川幸佑、糸井利幸、瀧岡建城、小坂喜太郎、長谷川功、櫻庭均：Oligonephropathy に合併した Fabry 腎症の 1 例、第 48 回日本小児腎臓病学会、2013.6.28-29. 徳島

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

西田 眞佐志 (NISHIDA MASASHI)  
京都府立医科大学・医学研究科・講師  
研究者番号：50275202

### (2) 研究分担者

浜岡 建城 (HAMAOKA KENJI)  
京都府立医科大学・医学研究科・教授  
研究者番号：60189602

(3)連携研究者

なし