

主論文の要旨

**CD147/basigin reflects renal dysfunction in
patients with acute kidney injury**

〔 CD147/basiginは急性期における腎機能障害を反映する 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻
病態内科学講座 腎臓内科学分野

(指導：松尾 清一 教授)

長屋 啓

I 緒言

急性腎障害 (AKI) は重症患者に高率に合併し、死亡率も高値であるため、早期診断・治療介入が極めて重要とされる。しかしながら、臨床で汎用されている血清クレアチニン値 (Cr) は AKI の認識に 2 から 3 病日を要する。それ故に、AKI の早期診断マーカーの開発は急務である。中でも、同患者の多くに認められる急性尿細管・間質障害は、虚血やその後誘導される免疫反応の活性化などの複雑な相互反応により引き起こされ、病理組織学的に急性尿細管壊死 (ATN) を呈する。特に、虚血に伴う腎尿細管細胞傷害は、アデノシン三リン酸 (ATP) の枯渇、プロテアーゼやホスホリパーゼの活性化により、血管内皮細胞障害と共に誘導される。この一連の過程には、好中球・マクロファージなどの炎症系細胞による組織浸潤・増殖が密接に関与している。

CD147/basigin はイムノグロブリン・スーパーファミリーに属する膜糖蛋白質で、血球系細胞・上皮系細胞および血管内皮細胞など広く分布している。多くの物質と生物学的活性を持ち、細胞の生存、アポトーシス、腫瘍の浸潤、乳酸代謝などに関与する。腎臓において、虚血再灌流モデルを作製した CD147 欠損マウスは炎症細胞の走化が抑制される事により尿細管・間質障害が軽減されると報告されている。しかしながら、虚血を伴う AKI における CD147 の臨床有用性については未だ検証されていない。本研究では CD147 が AKI における早期診断・治療介入に対する有益なバイオマーカーになり得るか、血清 Cr や尿中 L 型脂肪酸結合蛋白値 (L-FABP) といった既存のマーカーと比較検討した。

II 患者対象及び方法

研究①

(1) ATN 症例 (対象患者) :

2008~2012 年に名古屋大学附属病院およびその関連施設にて腎生検を施行し、病理学的に ATN と診断され、臨床的にも AKI と診断される 12 症例について腎生検施行前の血漿・尿を採取した。対照群として、顕微鏡的血尿や微量な蛋白尿を示し腎生検が臨床的に必要とされ施行されたが、病理学的に有意な所見を示さなかった 12 症例を使用した。なお、AKI の診断は Acute Kidney Injury Network (AKIN) による診断基準に従った。

(2) 腎組織の染色 :

腎生検組織標本に対し、CD147, CD5, CD68 による免疫染色を行い、連続切片にて評価した。

(3) 血液、尿検体の測定 :

両群の血漿・尿中 CD147 値、尿中 L-FABP 値を ELISA 法により測定した。更に、諸検査によって健常状態と見なされる血漿・尿の 9 検体も併せて測定し、比較検討した。

研究②

(ア)大動脈瘤(AAA)症例 (対象患者) :

2004年に名古屋大学附属病院にてAAAに対する手術を施行された症例の中からその期間中に腎毒性を有する薬物を使用したものを除外し、40症例を選定した。その中で、AKIN診断基準によってAKIと診断された7症例とそれ以外の33症例を対象患者とした。

(イ)血液、尿検体の測定 :

麻酔導入時、大動脈クランプ時、クランプ解除時、術直後、術後1日目、それぞれの時点で、血漿・尿中CD147値、尿中L-FABP値を測定した。なおクランプ解除時の血漿検体採取については安全上の配慮から施行していない。

III 結果

(1)対象症例患者の臨床パラメータ (Table 1) :

ATN症例は、平均年齢57.4歳で75%が男性であった。病理学的対照群と比べ血清Crや尿蛋白などの腎機能を評価するパラメータは増悪傾向であった。加えて、ATN症例では高血圧や貧血所見を示した。

(2)腎病理学的CD147の発現評価 (Figure 1) :

対照患者群において、CD147は近位尿細管と遠位尿細管の基底膜側、細胞間接着部位に強く発現を示した(1A)。一方、ATN患者群では、尿細管障害を認める部位においてCD147発現は著明に低下していた(1C)。加えて、同部位の周辺はCD147を発現している炎症系細胞の著明な浸潤を呈し、これらは免疫染色にてマクロファージやリンパ球であった(1D)。

(3)ATN症例における血漿・尿中CD147値 (Figure 2) :

ATN群では血漿・尿中CD147値はそれぞれ病理学的対照群や健康群に比して3~4倍程度有意な上昇を示し(2A, B)、古典的腎機能マーカーである血清Cr値や血中尿素窒素(BUN)と有意な相関を示した(2C, D)。加えて、血漿と尿中のCD147値は強い相関を呈した(2E)。

(4)ATN症例におけるCD147値と尿中L-FABP値の相関関係 (Figure 3) :

ATN症例において、尿中L-FABP値もCD147と同様に血清Cr値と有意な相関を示した(3A)。興味深い事に、尿中L-FABP値は血漿・尿中CD147値とそれぞれに相関を示していた(3B, C)。

(5)ATN症例における各種マーカーの診断有用性の評価 (Figure 4) :

血漿・尿中CD147値と尿中L-FABP値のATN診断有用性について、ROC曲線作製による評価解析を行った。AUC (area under the curve) 値が0.9以上である事が単独での診断有用性を示すとされるが、血漿CD147、尿中CD147、尿中L-FABPのAUC値はそれぞれ0.993、0.938、0.833であり、CD147は血漿・尿中いずれの場合も0.9以上であった。

(6) AAA 手術時の血漿・尿中 CD147 値と尿中 L-FABP 値の経時的推移 (Figure 5) :

AKI 群において、尿中 CD147 値は大動脈クランプ解除後から徐々に上昇し、非 AKI 群と比して術後 1 日目に有意な上昇を示した。しかし、尿中 CD147 値は非 AKI 群でも有意ではないが、若干の上昇を認めた(5A)。尿中 L-FABP 値は AKI 群にて大動脈クランプ後より上昇を示したが、値のばらつきも多く非 AKI 群と比して有意差を認めなかった。しかし、尿中 CD147 値と同様に術後 1 日目に有意差を認めた(5B)。興味深い事に、血漿 CD147 値は尿中 CD147 値と同様に術後 1 日目で有意な上昇を認めたが、非 AKI 群の血漿 CD147 値は尿中 CD147 値と異なり、計測期間中上昇を認めなかった(5C)。なお、古典的腎機能マーカーである血清 Cr 値は術後第 2 から 3 病日において有意な上昇を認めた。

IV 考察

本研究において、CD147 は血漿、尿中ともに血清 Cr 値や BUN 値と有意な相関を呈し、虚血による腎障害を反映し得る事が示された。測定された血漿 CD147 値は、炎症系細胞から膜型マトリックスメタロプロテアーゼにより shedding されたものを反映していると考ええる。一方で、尿中 CD147 は、CD147 を豊富に含む尿細管細胞が傷害され、脱落した事に起因する可能性が強い。我々は、ヒトやマウス尿細管上皮細胞に低酸素刺激を与えると、CD147 発現が誘導されるという知見を有している。更に、これまでの腎虚血を誘導した CD147 遺伝子欠損マウスにおける尿細管細胞障害や障害部位への炎症細胞浸潤が抑止されるという報告と併せ、CD147 は AKI の進展において重要な構成因子である事が強く推測される。実際、今回の ATN 腎生検組織標本において炎症細胞上の著明な CD147 発現を証明した。ヒト AKI においても腎障害に大きな影響を与える炎症細胞の集簇と CD147 値は密接な関係があると考ええる。

CD147 の AKI 診断のための臨床的有用性を検証するために、既に有用性が周知されている尿中 L-FABP 値と比較検討した。尿中 L-FABP は AKI の比較的早期に上昇し、その機序は障害近位尿細管における尿細管腔内への L-FABP の分泌によると報告されている。ATN 症例において、診断感度・特異度ともに CD147 は尿中 L-FABP と遜色なく、単独での AKI 診断に有用である可能性が示唆された。

更に、AKI の早期診断能について、一時的な血流遮断により虚血状態となる AAA 手術症例を用いて検討した。尿中 L-FABP と同様に血漿・尿中ともに CD147 値は、血清 Cr 値よりも早期に有意な上昇を認めた。更に、血漿 CD147 値は尿中 CD147 値と比して、非 AKI 患者における経時的変動が少ないため、よりバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。

V 結語

CD147 は、虚血による AKI に対し、早期診断・治療介入を可能にするバイオマーカーになる可能性が示唆される。