

主論文の要旨

**Efficacy of urinary midkine as a biomarker in  
patients with acute kidney injury**

〔 尿中 midkine の急性腎障害バイオマーカーとしての有用性 〕

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

(指導：丸山 彰一 教授)

林 宏樹

## 【緒言】

昨今の医療技術革新により集中治療領域を中心に、急性腎障害（AKI）を呈する症例の増加とその生命予後の不良は問題視されている。特に、腎虚血に伴う AKI の克服は重要な課題である。現在、AKI の指標として広く血清クレアチニン値（sCr）測定が用いられるが、sCr 上昇時には既に治療介入の機会を逸している症例が多い。それ故に、AKI に対する早期診断・治療を可能とする鋭敏なバイオマーカーの開発が急務である。

Midkine（MK）は中期胚から腎発生に関与するヘパリン結合性成長因子であり、その生物学的活性には、主に神経、腫瘍、炎症の領域において細胞の増殖、生存、遊走に対する関与が明らかにされている。これまでに腎虚血再灌流を惹起した MK 欠損マウスにおいて炎症細胞の遊走が抑制され、尿細管・間質細胞障害が顕著に軽減される事が報告されている。さらに高血圧症、糖尿病、薬剤に伴う腎障害についても、動物モデルを用いた検討で MK の関与が示唆されている。しかし、AKI における MK の臨床的有用性については、未検証のままである。

本研究において、尿中 MK が AKI の鑑別診断や早期診断の有益な指標となりうるか、 $\beta$ -D-N アセチルグルコサミニダーゼ（NAG）、インターロイキン（IL）-18、好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン（NGAL）といった既知のバイオマーカーと比較検討した。

## 【対象及び方法】

### (1) 対象

#### 1. AKI の鑑別診断能を評価する横断研究

2003 年 11 月から 2007 年 6 月の間に、名古屋大学医学部附属病院とその関連施設において腎生検による病理組織診断を行った 491 例、急速な腎機能低下のために腎臓内科コンサルテーションを受けた症例や腎生検の適応がないなどの理由で臨床診断を行った 58 例、健常者コントロール 33 例による計 582 症例を対象とした。48 時間以内に sCr が 0.3mg/dL 以上の上昇または 7 日間で sCr が 50% 以上の上昇を呈した場合、もしくは乏尿（400mL/日以下）を呈した場合に AKI と診断した。

#### 2. AKI の早期診断能を評価する前向き観察研究

2005 年 8 月から 2009 年 1 月の間に、名古屋大学医学部附属病院で待機的腹部大動脈瘤（AAA）手術を実施した症例のうち、腎毒性を有する薬物使用のない 40 症例を対象とした。AKI の診断は Kidney Disease: Improving Global Outcomes（KDIGO）の基準に従った。

### (2) 方法：

血漿および尿中 MK と、尿中 NAG、IL-18 および NGAL 値を ELISA 法により測定した。

#### 1. AKI の鑑別診断能を評価する横断研究

組織診断もしくは臨床診断時の血漿および尿保存検体を用いて、Receiver Operating

Characteristic (ROC) 曲線解析により各指標の AKI 診断能を検討した。

## 2. AKI の早期診断能を評価する前向き観察研究

待機的 AAA 手術において、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 日目に収集した尿検体を用い、AKI 及び非 AKI 症例における各指標の経時的推移を比較検討した。

### 【結果】

#### 1. AKI の鑑別診断能を評価する横断研究

##### (1) 対象症例の背景 (Table 1) :

登録症例全体の平均年齢は 53 歳で 57.6% が男性であった。全体の 11.5% が AKI を呈し、AKI の原疾患の内訳は急性尿細管壊死 (ATN) が最多で 47.8% の頻度であった。

##### (2) ベン図で示す対象症例の臨床/病理学的診断に基づく分類 (Fig. 1) :

臨床/病理学的に ATN と診断された全例が AKI を呈した。一方、他の腎疾患群で AKI を呈したのは 6.8% にすぎなかった。

##### (3) 尿中および血漿中 MK 値の度数分布 (Fig. 2) :

尿中に MK を検出することはまれであり、対象全体の 86.7% で MK 値は検出感度未満であった。一方で血漿中の MK 値は比較的幅広く分布した。

##### (4) 臨床/病理学的診断別の尿中 MK 値 (Fig. 3) :

ATN 症例で尿中 MK 値の顕著な上昇を認めた。パラプロテイン血症関連腎症や尿細管間質性腎炎、血栓性微小血管症といった尿細管障害を来たす疾患群でも尿中 MK 値の上昇を認めた。

##### (5) 疾患カテゴリー別の尿中 MK 値比較 (Table 2 および Table 3) :

尿中 MK は非 AKI 群およびコントロール群に比し、AKI 群において有意に高値であった。さらに AKI 群の中でも、ATN による AKI 症例は他の腎疾患による AKI 症例に比して、有意に尿中 MK が高値であった。

##### (6) 他の指標による AKI 診断 (Fig. 4) :

尿中 MK と同様に NAG、IL-18、NGAL といった他の指標においても、非 AKI 群およびコントロール群に比し、AKI 群は有意な高値を呈した。

##### (7) AKI 診断能の比較 (Fig. 5 および Table 4) :

ROC 曲線解析において、尿中 MK による AKI 診断の ROC 曲線下面積 (AUC) は 0.88 と他の指標より高値を示し、NAG や IL-18 との診断能については統計学的有意差を示した。尿中 MK のカットオフ値を 11.5pg/mL と設定した場合、AKI 診断の感度は 0.87、特異度は 0.85 であった。

##### (8) ATN の鑑別診断能の比較 (Fig. 6 および Table 5) :

AKI を来たす疾患として最も重要な ATN の鑑別診断能を比較するため、ROC 曲線解析を行った。尿中 MK による ATN 鑑別診断の AUC は 0.96 と著明な高値を示し、NAG、IL-18 および NGAL の AUC に対し統計学的に有意差を示した。尿中 MK のカットオフ値を 69.5pg/mL に設定した場合、ATN 診断の感度は 0.97、特異度は 0.90 であった。

## 2. AKI の早期診断能を評価する前向き観察研究

### (1) 対象症例の背景 (Table 6) :

待機的 AAA 手術を実施した 40 例中 12 例が AKI を呈した。AKI および非 AKI 群間において年齢、性別、推算糸球体ろ過量 (eGFR)、sCr、大動脈遮断時間について統計学的有意差を認めなかった。

### (2) 腹部大動脈瘤手術周術期における尿中バイオマーカーの推移 (Fig. 7) :

術前の麻酔導入時から腎虚血の極期と推測される大動脈クランプ解除時にかけて、AKI 群は非 AKI 群に比し反復測定分散分析において統計学的有意な MK 値の上昇を示し、大動脈クランプ解除後に速やかな低下を認めた。これはこれまでの “Golden standard” であった sCr 値より早期の上昇を示した。一方、他の指標は AKI 群と非 AKI 群間に有意な差を示さなかった。

### 【考察】

本研究において、尿中 MK は AKI の診断に有用であり、とりわけ AKI の中でも虚血・薬剤などを誘因とする ATN の鑑別診断において極めて高い感度・特異度を示していた。通常、MK は血中において複数の分子と約 250kDa の高分子複合体を形成するため糸球体よりろ過されず、本研究においても血漿中 MK 値と尿中 MK 値に弱い相関しか示さなかった (Fig. 8)。また、低酸素刺激時に近位尿細管培養細胞からの顕著な MK 誘導が報告されている。実際、腎虚血動物モデルにおいて尿細管細胞に特異的な MK の上昇が認められる。以上から、尿中 MK は主として腎灌流低下時の酸化ストレスにより尿細管細胞より誘導されたと推測される。

AKI 治療に最も重要とされる早期診断能について、一時的な血流遮断により腎虚血状態となる AAA 手術症例を用いて検討した。AKI 群において、尿中 MK は腎虚血の極期と推測される大動脈クランプ解除時をピークとして上昇し、解除後速やかに低下した。これはこれまでに AKI 診断における有用性が報告されている NAG、IL-18、NGAL といったバイオマーカーや、現在の “golden standard” である sCr を大きく凌ぐ結果であった。これらの結果は尿中 MK の AKI 早期診断における臨床的有用性を強く示している。

### 【結語】

尿中 MK は AKI の鑑別および早期診断能にすぐれたバイオマーカーとなり得る。