

博士課程用 (甲)

学位論文の内容の要旨

高橋 駿介 印

Identification of Urinary Activin A as a Novel Biomarker

Reflecting the Severity of Acute Kidney Injury

(尿中アクチビンは急性腎障害の重症度を反映する新たなバイオマーカーである)

【背景】

急性腎障害(Acute Kidney Injury: AKI)は腎虚血、敗血症、腎毒性薬剤など様々な原因によって発症する。AKIは軽症であっても腎予後、生命予後に影響を及ぼす。AKIは必ずしも完全に回復する病態ではなく、慢性腎臓病のリスクになり得る。AKIは血清Cr値と尿量により定義されるが、感度が鈍く診断時には既に病態が完成していることが多いため、近年、より早期に診断できる新規尿中バイオマーカーの探索が活発に行われている。

TGF- β ファミリーに属する分化誘導因子アクチビンは、様々な組織において多彩な生理作用を発揮する。我々はこれまで腎臓におけるアクチビンの役割を検討し、腎臓の形態形成、尿細管再生、腎線維化などの病態に深く関わる因子であることを明らかにしてきた。特にAKIにおいて、アクチビンは障害後の尿細管再生プロセスを負に調節し、フォリスタチン (アクチビン・アンタゴニスト) によって内因性アクチビンの作用を遮断すると、尿細管再生が著明に促進することを報告した (Maeshima et al. JASN 12: 1685-1695, 2001、Maeshima et al. JASN 12: 2850-2859, 2002)。

【目的】

AKIにおける尿中アクチビン測定の意義を急性腎障害モデルマウスおよび急性腎障害患者の尿サンプルを用いて検討した。

【方法】

C57BL/6jマウス(8-12週齢、オス)の両側腎動静脈を一定時間クランプ後開放し、虚血/再灌流障害(I/R)モデルを作成した。経時的に腎臓、尿を回収し、腎組織のアクチビンの発現量(Real-time PCR)、アクチビンの局在(免疫染色/In situ hybridization)、尿中アクチビン濃度(ELISA)を評価した。飲水制限により脱水を誘導した腎前性急性腎障害モデルマウスを作成し、腎組織におけるアクチビンの発現(免疫染色)、尿中アクチビン濃度(ELISA)を評価した。また、同意の得られたAKI患者(18名)の尿中アクチビン濃度(ELISA)を測定し、各種パラメーターとの相関を検証した。

【結果】

Real-time PCRの結果、マウス正常腎ではアクチビンの発現は認めなかったが、I/R 24時間後ピークとして一過性にアクチビンの発現は増加した。免疫染色では、アクチビンは主に近位尿細管に発現しており、既存の尿細管障害マーカーであるNGALまたはKIM-1の局在と一部オーバーラップしていた。一方、尿中アクチビンは正常マウスでは検出されなかったが、I/R後著明に増加し、I/R後3時間および48時間に2峰性のピークを認めた。In situ hybridizationの結果、正常腎ではアクチビンmRNAの発現はなく、I/R後6時間からアクチビンmRNAの発現を認め、主に尿細管細胞に局在していた。虚血時間(15分、22分、30分)に比例して、I/R後48時間のアクチビン陽

性面積は有意に増加した。同様に、尿中アクチビン濃度も虚血時間に応じて高い傾向を示した。

腎前性急性腎障害モデルマウスでは腎組織にアクチビンは発現せず、尿中アクチビンはわずかに上昇を認めたが、虚血再灌流モデルに比較して有意に低値であった。

健常人の尿中アクチビンは検出感度以下であったが、AKI患者では著明に増加していた。特に脱水等に伴う腎前性AKIでは増加がなく、薬剤などによる腎性AKIの際に尿中アクチビンは有意な増加を認めた。尿中KIM-1や尿蛋白、血清Cr、NAGと尿中アクチビンは有意な相関は認めなかった。

【考察】

マウスおよびヒトのAKIにおいて尿中にアクチビンが検出された。尿中にアクチビンが検出される機序は幾つか想定される。アクチビンは血中に存在し、分子量 25 kDの蛋白であることから理論的には糸球体で自由に濾過される。糸球体から濾過されたアクチビンは尿細管から再吸収される可能性があり、尿中アクチビンは尿細管障害による再吸収不全を反映している可能性がある。アクチビンはI/R 3時間後から尿中に検出されるが、その時点ではアクチビンmRNAが腎組織内に検出されないことはこの機序を支持している。二つ目の機序として、障害された尿細管上皮細胞からアクチビンが産生され、尿中に検出されることが想定される。In situ hybridization及び免疫染色にて、I/R 6時間後から近位尿細管を中心としてアクチビンが検出された。細胞増殖マーカー（PCNA）やTUNEL染色とアクチビンは共局在しないことから、細胞増殖やアポトーシスがアクチビンの発現を誘導した可能性は低く、むしろ虚血に伴う低酸素状態あるいはそれに伴う直接的な細胞障害によって、アクチビン産生が誘導されたものと思われる。

マウスにおいて、虚血時間に伴い尿中アクチビンが増加することが示され、アクチビン陽性面積は尿中アクチビンと有意な正の相関が認められた。血清Cr値の上昇しない軽度の腎障害（虚血時間15分）においても、尿中アクチビンは有意に上昇していた。また、ヒトAKI患者においても腎前性AKIでは上昇せず、腎性AKIにおいて尿中アクチビンの有意な上昇が認められていることから、アクチビンは急性腎障害における重症度を反映する鋭敏なマーカーとして有用であることが示唆された。

【まとめ】

尿中アクチビンはAKIの重症度を反映する新たなバイオマーカーとして有用と思われる。