

臨床病理

日本臨床検査医学会誌

THE OFFICIAL JOURNAL OF
JAPANESE SOCIETY OF LABORATORY MEDICINE



■原 著

合成基質法とトロンビン生成試験による
各種ヘパリン類の抗 Xa 活性の評価
APTT 検査における検査試薬による実測値の違い

■第 59 回学術集会

シンポジウム 3 : HbA1c の国際標準化とその波紋
シンポジウム 15 : 腎機能検査, 尿検査の臨床的意義と今後の展開
— 日本臨床検査医学会学会ニュース —

Vol.61 No.7

2013 年 7 月

日本臨床検査医学会事務所
〒101-0052 東京都千代田区神田小川町2-2
UIビル 2F

TEL 03-3295-0351 FAX 03-3295-0352
URL : <http://www.jslm.org/>
E-mail : office@jslm.org

臨床病理
Rinsho Byori

© 2013

▷ 第 59 回学術集会 シンポジウム 15 : 腎機能検査, 尿検査の臨床的意義と今後の展開 (5) ◁

保険収載された新規バイオマーカー

尿中 L-FABP の臨床的有用性

池森(上條)敦子*¹ 市川大介*² 松井勝臣*³
横山 健*⁴ 菅谷 健*⁵ 木村 健二郎*⁶

Urinary L-Type Fatty Acid Binding Protein (L-FABP) as a New Urinary Biomarker Promulgated by the Ministry of Health, Labour and Welfare in Japan

*Atsuko KAMIJO-IKEMORI, MD, PhD*¹, Daisuke ICHIKAWA, MD*², Katsuomi MATSUI, MD*³,
Takeshi YOKOYAMA, MD*⁴, Takeshi SUGAYA, PhD*⁵ and Kenjiro KIMURA, MD, PhD*⁶*

Liver-type fatty acid binding protein (L-FABP) is a 14kDa protein found in the cytoplasm of human renal proximal tubules. Fatty acids are bound with L-FABP and transported to the mitochondria or peroxisomes, where fatty acids are beta-oxidized, and this may play a role in fatty acid homeostasis. Moreover, L-FABP has high affinity and capacity to bind long-chain fatty acid oxidation products, and may be an effective endogenous antioxidant.

Renal L-FABP is rarely expressed in the kidneys of rodents. In order to evaluate the pathological dynamics of renal L-FABP in kidney disease, human L-FABP chromosomal transgenic mice were generated. Various stress, such as massive proteinuria, hyperglycemia, hypertension, and toxins overloaded in the proximal tubules were revealed to up-regulate the gene expression of renal L-FABP and increase the excretion of L-FABP derived from the proximal tubules into urine. In clinical studies of chronic kidney disease (CKD), urinary L-FABP accurately reflected the degree of tubulointerstitial damage and correlated with the rate of CKD progression. Furthermore, a multicenter trial has shown that urinary L-FABP is more sensitive than urinary protein in predicting the progression of CKD. With respect to diabetic nephropathy and acute kidney disease (AKI), urinary L-FABP is an early diagnostic of kidney disease or a predictive marker for renal prognosis.

After many clinical studies, urinary L-FABP was approved as a new tubular biomarker promulgated by the Ministry of Health, Labour and Welfare in Japan. **【Review】**

[Rinsho Byori **61** : 635~640, 2013]

Corresponding author: *Kenjiro KIMURA*, MD, PhD, Department of Nephrology and Hypertension, St. Marianna University School of Medicine, Kawasaki 261-8511, Japan. E-mail: a2kamiyo@marianna-u.ac.jp

【Key Words】 biomarker (バイオマーカー), urinary L-FABP (尿中 L-FABP), proximal tubule (近位尿細管), chronic kidney disease: CKD (慢性腎臓病), acute kidney disease: AKI (急性腎障害)

*¹~⁶ 聖マリアンナ医科大学腎臓・高血圧内科, *¹ 同 解剖学 (機能組織) (〒216-8511 川崎市宮前区菅生 2-16-1)

今や国民病である腎臓病は、進行すると末期腎不全に到り、莫大な医療費を要する透析療法が必要となる。血液透析患者は、年々増加し、2011年度には30万人に達し、その後も増加を続けている。さらに、腎臓病は、末期腎不全に至るだけでなく、心血管病発症の危険因子となっている。そのため、腎臓病の進行抑制が求められるが、腎臓病を根治させる薬物療法がないことから、腎臓病の早期診断、早期治療が非常に重要となる。

古典的な腎臓病マーカーとして、糸球体の濾過機能が破綻した結果として血液中から漏出する尿蛋白(尿アルブミン)、尿細管再吸収機能が低下した結果として尿中排泄が増加する低分子蛋白 β_2 -microglobulin (β_2 MG)、 α_1 MG、近位尿細管の刷子縁に局在する酵素 N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG)、血液中のクレアチニンクリアランス障害で増加する血清 creatinine (sCr) が知られている。しかし、これらのマーカーだけでは、腎臓病の早期診断・早期治療、腎臓病のモニタリング、腎臓病の進行高危険群の絞り込みが、十分に行えないのが現状である。

尿中 L 型脂肪酸結合蛋白 (L-FABP) は、慢性腎臓病 (CKD) の進展予測や治療応答性、急性腎障害 (AKI) の早期診断に対して、高い診断精度を有する日本発のバイオマーカーである。2010年9月に「尿細管機能障害を伴う腎疾患の診断」を使用目的として体外診断用医薬品の承認を取得し、2011年8月か

ら CKD, AKI を対象として保険収載された (Fig. 1)。ここでは、腎疾患における L-FABP の動態や役割、尿中 L-FABP 測定法、いままでに報告されている尿中 L-FABP の臨床的意義について述べる。

I. L-FABP とは

L-FABP は、ヒトの近位尿細管上皮細胞の細胞質に発現している分子量 14kDa の低分子量蛋白で¹⁾、結合した脂質をミトコンドリアやペルオキシソームといった脂肪酸の β 酸化が行われる細胞内小器官に輸送したり、または脂質をリガンドとする転写因子 (peroxisome proliferator-activated receptor: PPAR) を活性化することにより、細胞内の脂肪酸レベルの恒常性に関与していると考えられている。また、過酸化脂質と結合し、抗酸化作用を有することも報告されている^{2)~5)}。

Gene Chip Database (ASCENTA System[®] 2.0 from Gene Logic, Gaithersburg MD, 米国) によると C57BL/6 Strain マウスの腎臓には、L-FABP が発現していないことから、種差が認められる。L-FABP 染色体遺伝子導入マウス (遺伝子改変マウス) を用いて行った基礎的研究では、尿細管間質障害を惹起・進行させる高血糖、蛋白尿、虚血、高血圧、薬剤などが腎臓に負荷されると、近位尿細管におけるヒト L-FABP の発現は亢進し、尿中への L-FABP の排泄が増加する事が観察された⁶⁾⁷⁾。

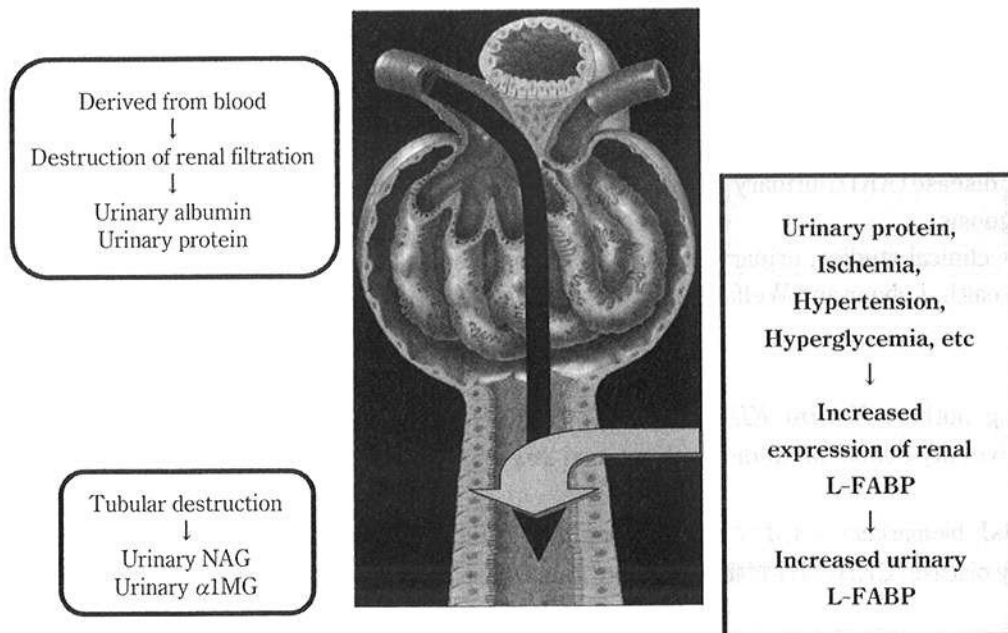


Figure 1 Various urinary markers included in urinary L-FABP.

臨床的にも、腎臓病が進行している人または腎臓病の進行する人では、尿中L-FABPが高値を示すが⁸⁾、おそらくヒトの腎臓でもL-FABP発現が増加し、尿中への排泄が増加すると推測される。

II. 尿中L-FABPの測定法

尿中L-FABPは、ヒトL-FABPに対する特異的なモノクローナル抗体を用いたサンドイッチELISA法で測定される(CMIC Co Ltd)⁸⁾。この測定キットを使用した尿中L-FABPの測定は、尿沈査の影響を受けず、新鮮尿、早朝尿、24時間蓄尿のいずれの尿検体においても測定可能であり、再現性が高い。また食事の影響を受けず、日内変動も認めない。最近の研究では、中等度の運動後でも尿中L-FABPは変動しなかった⁹⁾。そのため尿中L-FABPの測定は、きわめて安定であるといえる。正常上限値は、8.4 μ g/g creatinineと考えている。

III. 尿中L-FABP測定の臨床的意義

尿中L-FABPは、ヒト腎生検組織の間質尿細管障害の程度と相関し、尿細管障害を反映するマーカーである¹⁰⁾。腎疾患の進行および予後は、糸球体病変の程度より間質尿細管障害の程度と相関することが、古くから知られているため¹¹⁾、尿細管障害のマーカーである尿中L-FABPは、腎疾患の予後を推測するのに有用である可能性がある。

A. 非糖尿病性CKD

非糖尿病性慢性腎疾患患者を対象にした多施設臨床研究では、腎予後を予測する際に有用であることが示された¹²⁾。尿中L-FABPは、従来の糸球体障害マーカーである尿蛋白に比べ、高い感度で、腎疾患の進行する患者を判別するのに有用であることが見出された。また、CKDの進行とともに増加し、軽快とともに減少することから、CKDのモニタリングマーカーとして日常診療で使用していけると考えられる。

B. 糖尿病性腎症における臨床的意義

間質尿細管障害と尿中L-FABPの関係を明らかにするため、尿蛋白レベルが同程度のネフローゼ症候群を呈する糖尿病性腎症と微小変化型ネフローゼ症候群の尿中L-FABPを比較した¹³⁾。その結果、腎生検にて高度の間質尿細管障害を認める糖尿病性腎症で有意に尿中L-FABPが高値であった。糖尿病性腎症においても、尿中L-FABPは、間質尿細管障害の

程度を反映する指標であることが示された。

糖尿病性腎症は、透析導入原因疾患の第1位であり、糖尿病性腎症の早期診断は、腎疾患の進行抑制に重要である。糖尿病性腎症は、尿中微量アルブミン、尿蛋白、Ccrの程度により5期の病期(腎症前期、早期腎症、顕性腎症、腎不全、透析)に分類される。外来通院中の2型糖尿病患者147人を対象に、尿中L-FABP値と病期との関係を検討した。その結果、病期の進行とともに尿中L-FABP値は増加し、さらに尿中微量アルブミンが出ていない腎症前期において、尿中L-FABPは健常コントロールに比べ有意に高値であった(Fig. 2)¹⁴⁾。1型糖尿病患者でも同様の結果が報告されている¹⁵⁾。これらの結果から、尿中L-FABPは、糖尿病性腎症の早期診断に有用である可能性がある。

さらに、聖マリアンナ医科大学病院で行った2型糖尿病の腎症患者(n=104)を対象にした4年間の縦断的研究では、腎症進行の患者では、観察開始時の尿中L-FABPが、進行しなかった患者より有意に高値であった。また尿中L-FABPが基準値(8.4 μ g/g creatinine)以上の高値である事は、腎症進行の有意な危険因子であった¹⁴⁾。12年という長期間の縦断研究を行った滋賀医科大学からも、同様の報告がされている¹⁶⁾。1型糖尿病においても、同様に尿中L-FABPが高値である患者は、有意に腎症の進行が認められている¹⁷⁾。これらの結果から、尿中L-FABPは糖尿病性腎症の早期診断ならびに腎症進行の高危険群の判別に有用であると考えられる。今後は、尿中L-FABP値を基準値以下に下げる事を目標に治療していく必要がある。

C. 治療介入による尿中L-FABPへの影響

様々な腎疾患治療による尿中L-FABPへの影響が報告されている。難治性の巣状糸球体硬化症におけるLDLアフェレーシス¹⁸⁾、多発性のう胞腎¹⁹⁾におけるアンジオテンシンII受容体拮抗薬、糖尿病性腎症におけるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体gamma agonist²⁰⁾やスタチン²¹⁾によって、腎疾患の進行が抑制されると、尿中L-FABP値は低下した。尿中L-FABPは、腎疾患のモニタリングマーカーになりうる。

D. 急性腎不全

海外の報告では、Portillaらは、心肺バイパスを受けた40人の小児のうち、3日以内にAKIになった患者21人(52%)では、術後4時間後の尿中L-FABP

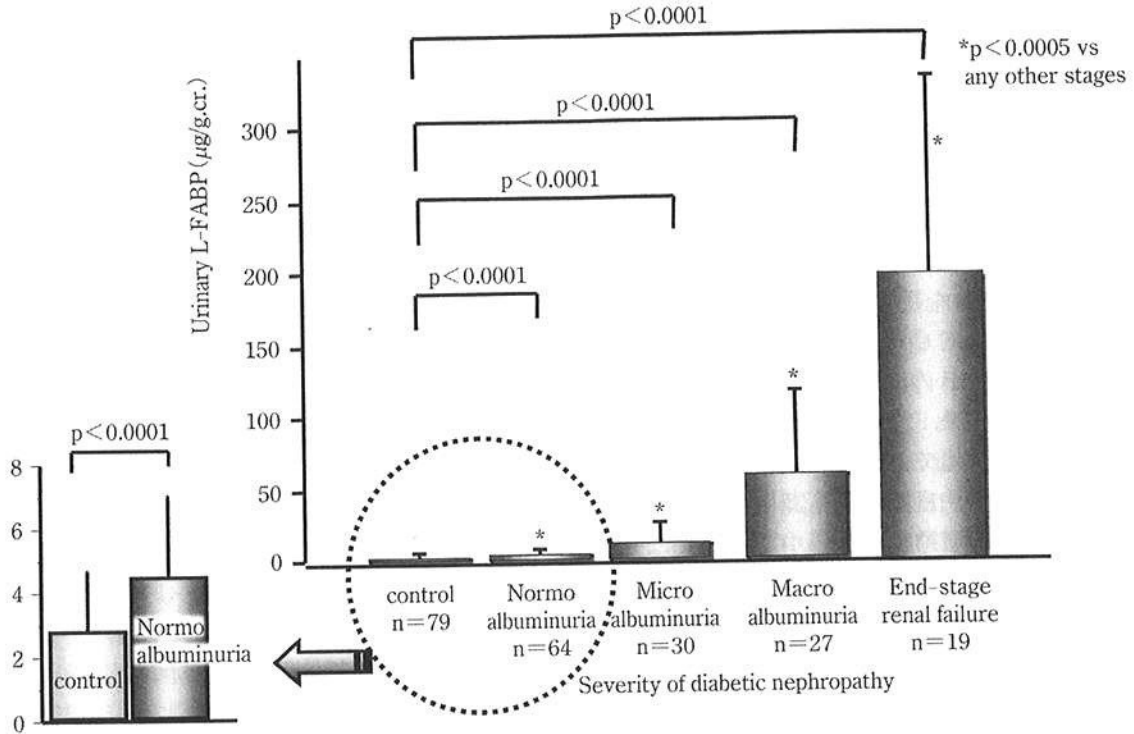


Figure 2 Urinary L-FABP levels in diabetic nephropathy. Urinary L-FABP levels increased in the progression of diabetic nephropathy¹⁴⁾.

が、AKIを認めなかった患者に比べ有意に高値であったことを報告している(1,885ng/mg.cre vs 360ng/mg.cre)²²⁾。血清クレアチニンは、術後48時間後になってから有意に上昇しており、血清クレアチニンよりも早期に急性腎不全の診断ができる可能性がある。

さらに、国内からは成人におけるAKIの早期診断に尿中L-FABPが有用であることも多く報告されている。聖マリアンナ医大の松井は、心血管手術を受けた患者を対象に尿中L-FABPを測定したところ、術後48時間以内にAKIを発症した患者(n=48)では、尿中L-FABPが術直後から増加していたが、尿中NGALなどの他のマーカーは術直後では増加を認めなかった事を報告している(Fig. 3)²³⁾。尿中L-FABPは、他のマーカーに比べて、AKIの早期診断に優れていると考えられる。

血行動態の障害による急性腎不全において、尿中L-FABPが上昇する機序としては、傍尿細管毛細血管の血流低下による尿細管虚血が刺激となり、腎臓におけるL-FABPの発現が増加し、尿中へのL-FABP排泄が増加すると考えられる。実際、尿中L-FABPの排泄量は、腎の血液還流量と逆相関することが報告されており、尿中L-FABPは、尿NAG、尿中 α 1-Mg、尿中 β 2-Mgといった従来の尿細管障害マ

ーカーよりも鋭敏に尿細管虚血の程度を反映する²⁴⁾。

E. 造影剤腎症

造影剤投与は、一過性の腎虚血を惹起することが知られており、腎組織の酸素分圧が皮質で63%、髄質で35%にまで低下すると報告されている。造影剤腎症は、このような腎虚血、尿細管虚血により発症する急性腎不全である。このような造影剤腎症の早期診断にも尿中L-FABPが有用であることが報告されている。中村らは、心臓カテーテル検査を受けた66人の患者を対象に造影剤腎症の発症と尿中L-FABPの関係を検討した²⁵⁾。その結果、13人に造影剤腎症の発症を確認したが、そのような患者では、発症しない患者にくらべ、造影剤投与前から尿中L-FABPが、有意に高値であり(18.5±12.8ng/mg.cre vs 7.4±4.4ng/mg.cre)、さらに造影剤投与後翌日から尿中L-FABPは有意に上昇し(翌日46.8±30.5ng/mg.cre、2日後38.5±28.5ng/mg.cre)、14日後まで高値(34.5±30.0ng/mg.cre)が持続したと報告している²⁵⁾。尿中L-FABPが高い患者では、造影剤腎症を発症しやすく、また翌日の尿中L-FABPが有意に上昇した場合は、造影剤腎症と早期に診断できる可能性が示された。

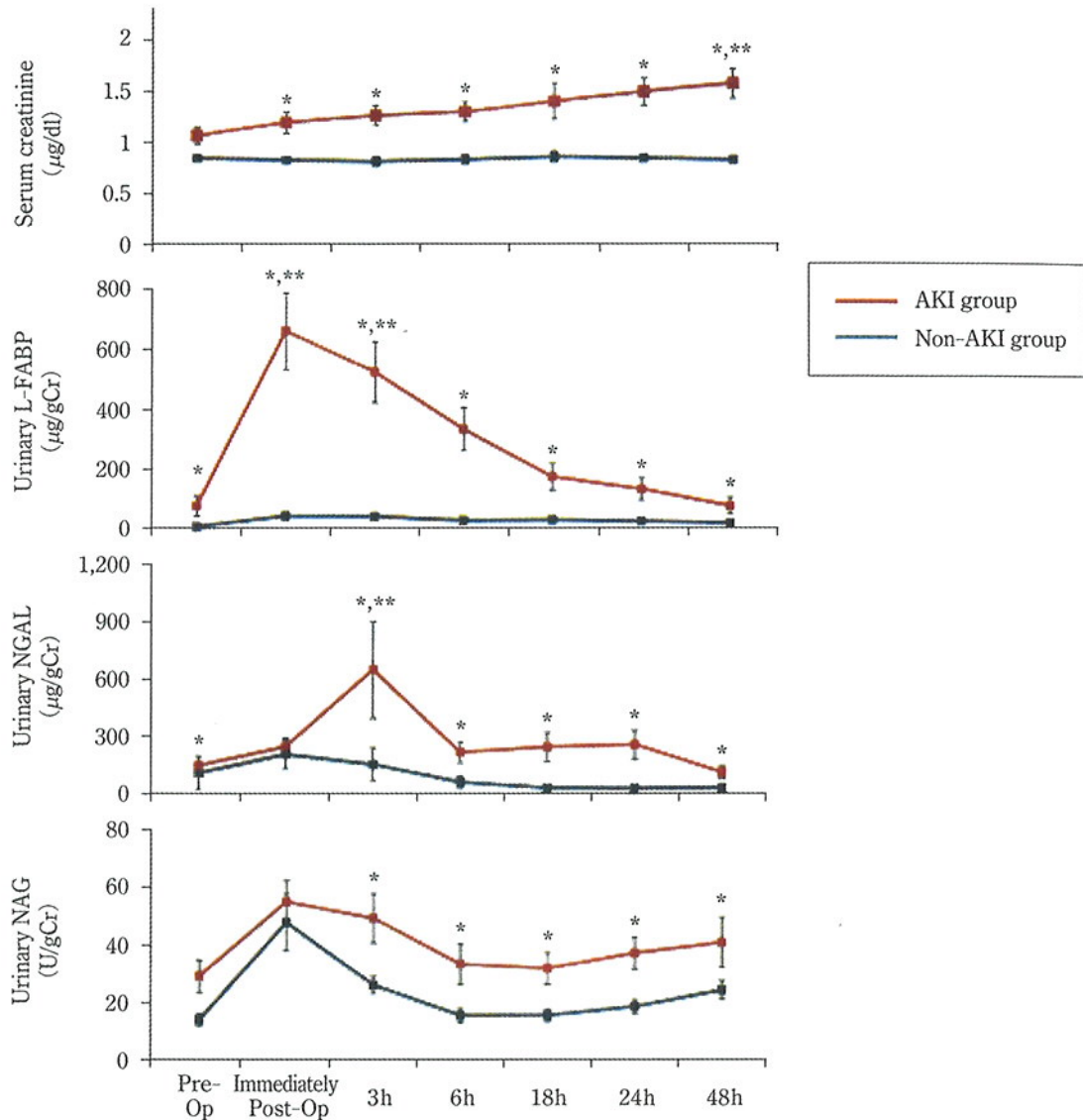


Figure 3 Various urinary markers in the (red) AKI and (blue) non-AKI groups²³⁾.

*p<0.05, compared with the non-AKI group at the same time points;

**p<0.05 compared with the respective preoperative level in the same group.

IV. おわりに

臨床の場では、CKDでもAKIでも早期に腎疾患の進行する患者を選別し、早期に、集学的に治療を導入する事が求められている。L-FABPは、腎臓を障害する因子が腎臓(近位尿細管)に負荷されると発現が増加し、何らかの機序で尿中への排泄が増加する。そのため、尿中L-FABPは、従来のマーカーでは捉えることができない病態を明らかにできる優れた臨床マーカーであると考えられる。保険収載されているため、多くの施設で測定される事を希望する。

文 献

- 1) Furuhashi M, Hotamisligil GS. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7: 489-503.
- 2) Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Obama A, et al. Liver type fatty acid binding protein attenuates renal injury induced by unilateral ureteral obstruction. *Am J Pathol* 2006; 169: 1107-17.
- 3) Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Sekizuka A, et al. Amelioration of diabetic tubulointerstitial damage in liver-type fatty acid binding protein transgenic mice.

- Nephrol Dial Transplant 2008; 24: 788-800.
- 4) Matsui K, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, et al. Renal Liver-Type Fatty Acid Binding Protein(L-FABP) attenuated acute kidney injury in aristolochic acid nephrotoxicity. *Am J Pathol* 2010; 178: 1021-32.
 - 5) Negishi K, Noiri E, Maeda R, et al. Renal L-type fatty acid-binding protein mediates the bezafibrate reduction of cisplatin-induced acute kidney injury. *Kidney Int* 2008; 73: 1374-84.
 - 6) Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Matsui K, et al. Roles of human liver type fatty acid binding protein in kidney disease clarified using hL-FABP chromosomal transgenic mice. *Nephrology* 2011; 16: 539-44.
 - 7) Ichikawa D, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, et al. Renal liver-type fatty acid binding protein attenuates angiotensin II-induced renal injury. *Hypertension* 2012; 60: 973-80.
 - 8) Kamijo A, Kimura K, Sugaya T, et al. Urinary fatty acid binding protein as a new clinical marker for the progression of chronic renal disease. *J Lab Clin Med* 2004; 143: 23-30.
 - 9) Hiraki K, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, et al. Moderate-intensity single exercise session does not induce renal damage. *J Clin Lab Anal* 2013, in press.
 - 10) Kamijo A, Sugaya T, Hikawa A, et al. Urinary excretion of fatty acid-binding protein reflects stress overload on the proximal tubules. *Am J Pathol* 2004; 165: 1243-55.
 - 11) Risdon R, Sloper J, De Wardener H. Relationship between renal function and histological changes found in renal-biopsy specimens from patients with persistent glomerular nephritis. *Lancet* 1968; 2: 363-6.
 - 12) Kamijo A, Sugaya T, Hikawa A, et al. Clinical evaluation of urinary excretion of liver-type fatty acid binding protein as a marker for monitoring chronic kidney disease: A multi-center trial. *J Lab Clin Med* 2005; 145: 125-33.
 - 13) Sasaki H, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, et al. Urinary fatty acids and liver type fatty acid binding protein in diabetic nephropathy. *Nephron Clin Pract* 2009; 112: 148-56.
 - 14) Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Yasuda T, et al. Clinical significance of urinary liver-type fatty acid-binding protein in diabetic nephropathy of type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2011; 34: 691-6.
 - 15) Nielsen SE, Sugaya T, Tarnow L, et al. Tubular and glomerular injury in diabetes and the impact of ACE inhibition. *Diabetes Care* 2009; 32: 1684-8.
 - 16) Araki SI, Haneda M, Koya D, et al. Predictive effects of urinary liver-type fatty acid-binding protein for deteriorating renal function and incidence of cardiovascular disease in type 2 diabetic patients without advanced nephropathy. *Diabetes Care* 2012, in press.
 - 17) Nielsen S, Sugaya T, Hovind P, et al. Urinary liver-type fatty acid-binding protein(u-LFABP) predicts progression to nephropathy in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* 2010; 33: 1320-4.
 - 18) Nakamura T, Sugaya T, Kawagoe Y, et al. Urinary liver-type fatty acid-binding protein levels for differential diagnosis of idiopathic focal glomerulosclerosis and minor glomerular abnormalities and effect of low-density lipoprotein apheresis. *Clin Nephrol* 2006; 65: 1-6.
 - 19) Nakamura T, Sugaya T, Kawagoe Y, et al. Candesartan reduces urinary fatty acid-binding protein excretion in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Med Sci* 2005; 330: 161-5.
 - 20) Nakamura T, Sugaya T, Kawagoe Y, et al. Effect of pioglitazone on urinary liver-type fatty acid-binding protein concentrations in diabetes patients with microalbuminuria. *Diabetes Metab Res Rev* 2006; 22: 385-9.
 - 21) Nakamura T, Sugaya T, Kawagoe Y, et al. Effect of pitavastatin on urinary liver-type fatty acid-binding protein levels in patients with early diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2005; 28: 2728-32.
 - 22) Portilla D, Dent C, Sugaya T, et al. Liver fatty acid-binding protein as a biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int* 2008; 73: 465-72.
 - 23) Matsui K, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, et al. Usefulness of urinary biomarkers in early detection of acute kidney injury after cardiac surgery in adults. *Circ J* 2011; 76: 213-20.
 - 24) Yamamoto T, Noiri E, Ono Y, et al. Renal L-type fatty acid-binding protein in acute ischemic injury. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2894-902.
 - 25) Nakamura T, Sugaya T, Node K, et al. Urinary excretion of liver-type fatty acid-binding protein in contrast medium-induced nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2006; 47: 439-44.