

新規に保険収載された尿中バイオマーカー： 尿中L型脂肪酸結合蛋白 (L-FABP)

Urinary L type fatty acid binding protein (L-FABP) as a new urinary biomarker promulgated by Ministry of Health, Labour and Welfare.

いけもり かみじょう あつこ すが や たけし き むら けんじろう
池森(上條)敦子^{1,2)}：菅谷 健¹⁾：木村 健二郎¹⁾
Atsuko KAMIJO-IKEMORI Takeshi SUGAYA Kenjiro KIMURA

今や国民病である慢性腎疾患 (CKD) は、進行すると末期腎不全に至り、莫大な医療費を要する透析療法が必要となる。しかし、このような状況にもかかわらず、製薬会社による新規 CKD 治療薬の開発はほとんど行われていない。CKD 治療薬の開発に対する製薬会社のモチベーションが低い原因として、CKD は長期にわたり進行するので、長期間の臨床研究が必要になることに加え、CKD には有用なサロゲートマーカーがないといった臨床薬の薬効評価が極めて困難なためと考えられている。そこで、私たちは、CKD 治療薬の開発を行うために、まず CKD をモニタリングするために有用なバイオマーカーの確立が必須であると考え、バイオマーカー開発に着手し、尿中肝臓型脂肪酸結合蛋白 (L-FABP) の測定法を確立した。その後、数々の臨床研究を行い、尿中 L-FABP は、CKD だけでなく急性腎障害 (AKI) における尿細管機能障害を反映するマーカーとして、ついに 2011 年 8 月に保険収載されるに至った。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、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)}。

野生型マウスの腎臓には、L-FABP が発現していないことから、L-FABP 染色体遺伝子導入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、虚血などが生じると、尿細管における 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⁾。

ヒトの腎疾患、なかでも腎疾患が進行している患者または腎疾患の進行する恐れのある患者では、尿中 L-FABP が高値を示すが⁷⁾、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考えられる。

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)⁷⁾。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。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、8.4μg/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⁸⁾。腎疾患の進行および予後は、糸球体病変

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

1) Department of Nephrology and Hypertension, St. Marianna University School of medicine

2) Department of Anatomy, St. Marianna University School of medicine (2-16-1, Sugao, Miyamae-ku, Kanagawa)

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⁹⁾、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。

1. 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¹⁰⁾。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。

2. 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¹¹⁾。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¹²⁾。1 型糖尿病患者でも同様の結果が報告されている¹³⁾。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、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 (8.4µg/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¹²⁾。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¹⁴⁾。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。

3. 治療介入による尿中 L-FABP への影響

さまざま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¹⁵⁾、多発性のう胞腎¹⁶⁾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 agonist¹⁷⁾ やスタチン¹⁸⁾ 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。

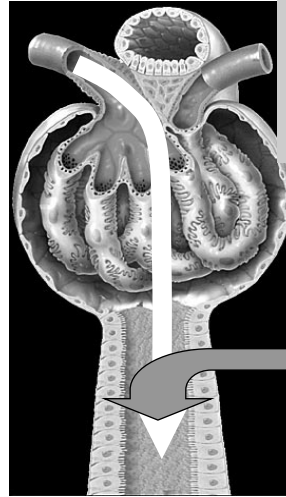
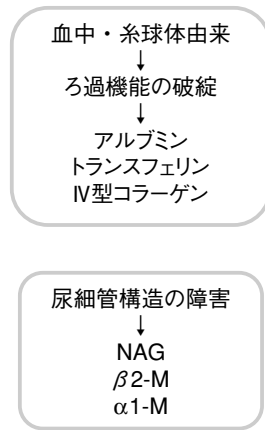
4. 急性腎不全

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 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 (1885ng/mg.cre vs 360ng/mg.cre)¹⁹⁾。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勝臣医師は、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²⁰⁾。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

従来の尿検査は糸球体や尿細管の組織障害の結果、尿中に漏出した物質を定量する。尿中保存安定性が低い項目が多い。



L-FABPはヒト近位尿細管の細胞質に局在する14kdの蛋白質。組織障害が進行する以前の、尿細管への様々なストレスによって尿中に排出されるため、尿細管機能障害の早期診断に有用。凍結融解・pH安定性が高く、早朝尿、スポット尿、蓄尿いずれでも、性差・年齢差なく測定可能。

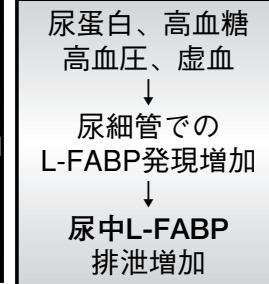


図1

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-マイクログロブリン(α 1-M)、尿中 β 2-マイクログロブリン(β 2-M)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²¹⁾。

5. 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²²⁾。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、発症しない患者に比べ、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²²⁾。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。

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。従来使用しているバイオマーカーは、腎組織に構造上の障害が生じた結果、尿中への排泄が増加する。たとえば、尿蛋白は糸球体障害により、尿中NAGや尿中 α 1-Mは尿細管障害により尿中への排泄が増加する。そのため、腎疾患の進行する患者を判別することは困難であった。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とら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(図1)。このような新規のバイオマーカーが使用できるようになったことで、今後、腎疾患治療薬の開発が促進される事を期待する。

文 献

- 1) Furuhashi M, Hotamisligil GS : Fatty acid-binding proteins : role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nat Rev Drug Discov* 7 : 489-503, 2008.
- 2) Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Obama A, Hiroi J, Miura H,

- Watanabe M, Kumai T, Ohtani-Kaneko R, Hirata K, Kimura K : Liver type fatty acid binding protein attenuates renal injury induced by unilateral ureteral obstruction. *Am J Pathol* **169** : 1107-1117, 2006.
- 3) Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Sekizuka A, Hirata K, Kimura K : Amelioration of diabetic tubulointerstitial damage in liver-type fatty acid binding protein transgenic mice. *Nephrol Dial Transplant* **24** : 788-800, 2008.
 - 4) Matsui K, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Yasuda T, Kimura K : Renal Liver-Type Fatty Acid Binding Protein (L-FABP) attenuated acute kidney injury in aristolochic acid nephrotoxicity. *Am J Pathol* **178** : 1021-1032, 2010.
 - 5) Negishi K, Noiri E, Maeda R, Portilla D, Sugaya T, Fujita T : Renal L-type fatty acid-binding protein mediates the bezafibrate reduction of cisplatin-induced acute kidney injury. *Kidney Int* **73** : 1374-1384, 2008.
 - 6) Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Matsui K, Yokoyama T, Kimura K : Roles of human liver type fatty acid binding protein in kidney disease clarified using hL-FABP chromosomal transgenic mice. *Nephrology* **16** : 539-544, 2011.
 - 7) Kamijo A, Kimura K, Sugaya T, Yamanouchi M, Hikawa A, Hirano N, Hirata Y, Goto A, Omata M : Urinary fatty acid binding protein as a new clinical marker for the progression of chronic renal disease. *J Lab Clin Med* **143** : 23-30, 2004.
 - 8) Kamijo A, Sugaya T, Hikawa A, Okada M, Okumura F, Yamanouchi M, Honda A, Okabe M, Fujino T, Hirata Y, Omata M, Kaneko R, Fujii H, Fukamizu A, Kimura K : Urinary excretion of fatty acid-binding protein reflects stress overload on the proximal tubules. *Am J Pathol* **165** : 1243-1255, 2004.
 - 9) 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* **2** : 363-366, 1968.
 - 10) Kamijo A, Sugaya T, Hikawa A, Yamanouchi M, Hirata Y, Ishimitsu T, Numabe A, Takagi M, Hayakawa H, Tabei F, Sugimoto T, Mise N, Kimura K : 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* **145** : 125-133, 2005.
 - 11) Sasaki H, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Yamashita K, Yokoyama T, Koike J, Sato T, Yasuda T, Kimura K : Urinary fatty acids and liver type fatty acid binding protein in diabetic nephropathy. *Nephron Clin Pract* **112** : c148-156, 2009.
 - 12) Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Yasuda T, Kawata T, Ota A, Tatsunami S, Kaise R, Ishimitsu T, Tanaka Y, Kimura K : Clinical significance of urinary liver-type fatty acid-binding protein in diabetic nephropathy of type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* **34** : 691-696, 2011.
 - 13) Nielsen SE, Sugaya T, Tarnow L, Lajer M, Schjoedt KJ, Astrup AS, Baba T, Parving HH, Rossing P : Tubular and glomerular injury in diabetes and the impact of ACE inhibition. *Diabetes Care* **32** : 1684-1688, 2009.
 - 14) Nielsen S, Sugaya T, Hovind P, Baba T, Parving H, Rossing P : Urinary liver-type fatty acid-binding protein (u-LFABP) predicts progression to nephropathy in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* **33** : 1320-1324, 2010.
 - 15) Nakamura T, Sugaya T, Kawagoe Y, Ueda Y, Osada S, Koide H : 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* **65** : 1-6, 2006.
 - 16) Nakamura T, Sugaya T, Kawagoe Y, Ueda Y, Osada S, Koide H : Candesartan reduces urinary fatty acid-binding protein excretion in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Med Sci* **330** : 161-165, 2005.
 - 17) Nakamura T, Sugaya T, Kawagoe Y, Ueda Y, Koide H : Effect of pioglitazone on urinary liver-type fatty acid-binding protein concentrations in diabetes patients with microalbuminuria. *Diabetes Metab Res Rev* : in press, 2006.
 - 18) Nakamura T, Sugaya T, Kawagoe Y, Ueda Y, Osada S, Koide H : Effect of pitavastatin on urinary liver-type fatty acid-binding protein levels in patients with early diabetic nephropathy. *Diabetes Care* **28** : 2728-2732, 2005.
 - 19) Portilla D, Dent C, Sugaya T, Nagothu KK, Kundi I, Moore P, Noiri E, Devarajan P : Liver fatty acid-binding protein as a biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int* **73** : 465-472, 2008.
 - 20) Matsui K, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Yasuda T, Kimura K : Usefulness of urinary biomarkers in early detection of acute kidney injury after cardiac surgery in adults. *Circ J* **76** : 213-220, 2011.
 - 21) Yamamoto T, Noiri E, Ono Y, Doi K, Negishi K, Kamijo A, Kimura K, Fujita T, Kinukawa T, Taniguchi H, Nakamura K, Goto M, Shinozaki N, Ohshima S, Sugaya T : Renal L-type fatty acid-binding protein in acute ischemic injury. *J Am Soc Nephrol* **18** : 2894-2902, 2007.
 - 22) Nakamura T, Sugaya T, Node K, Ueda Y, Koide H : Urinary excretion of liver-type fatty acid-binding protein in contrast medium-induced nephropathy. *Am J Kidney Dis* **47** : 439-444, 2006.