

腎移植術における尿中肝臓型遊離脂肪酸結合蛋白 (liver-type fatty acid binding protein : L-FABP) の動態

河村 優子¹⁾ 前村 由美¹⁾ 寺田 享志¹⁾
落合 亮一^{1)*} 河村 毅²⁾ 相川 厚²⁾

¹⁾東邦大学医学部麻酔科学第1講座

²⁾東邦大学医学部腎臓学講座

要約

背景と目的：肝臓型遊離脂肪酸結合蛋白 (liver-type fatty acid binding protein : L-FABP) は、細胞内のエネルギー・脂質代謝および疎水性リガンドの輸送を担う分子量約 14 kDa の可溶性蛋白で、腎臓の近位尿管の酸化ストレス障害を反映する。腎臓における虚血再灌流障害のバイオマーカーとして L-FABP の動態を評価する目的で、虚血時間が特定できる腎移植術で、腎虚血時間と初尿中の L-FABP 値の関係を検討した。

対象および方法：東邦大学医療センター大森病院で生体腎移植術を予定した成人ドナーおよびレシピエント 8 組を対象とした。ドナーからは術前、尿管切断直後の残腎からの尿、手術終了時、レシピエントからは再灌流直後の初尿を採取し尿中 L-FABP 値を測定した。ドナーの術前尿中 L-FABP 値とレシピエント初尿中 L-FABP 値の比較は paired *t* 検定を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。初尿中 L-FABP 値と虚血時間との相関関係は、相関分析を行った。

結果：ドナーの術前尿中 L-FABP 値 ($7.1 \pm 6.5 \mu\text{g} \cdot \text{gCr}^{-1}$) と比較し、レシピエントの初尿中 L-FABP 値 ($476.4 \pm 393.2 \mu\text{g} \cdot \text{gCr}^{-1}$) は有意に増加した。レシピエント初尿中 L-FABP 値と虚血時間に相関は認められなかったが、増加率については有意ではなかったが弱い相関が認められた。

結論：尿中 L-FABP は、虚血・再灌流障害を受けた直後の早期の段階から有意に上昇しており、尿中 L-FABP は採尿という簡易な手段で測定が可能であり、腎虚血再灌流障害の評価に際して臨床的意義が高いことが示唆された。

東邦医学会誌 59(1) : 9-14, 2012

索引用語：肝臓型脂肪酸結合蛋白 (L-FABP), 虚血再灌流障害, 急性腎障害 (AKI), 腎移植術, バイオマーカー

人工心肺を用いた手術や腹部大動脈瘤手術などは、術中に腎血流量が低下あるいは途絶し、術後に急性腎不全となる可能性がある。術後の急性腎不全の発症は予後に影響するため、早期診断・治療が重要である¹⁻³⁾。最近、慢性腎障害における急性変化が予後との関連で注目され、急性腎障害 (acute kidney injury : AKI) という疾患概念が普及している。AKIN (Acute Kidney Injury Network) の提案する AKI の診断基準は、血清クレアチニン (creatinine :

Cr) 値が 0.5 g/dL あるいは前値との比較で 1.5 倍以上の変化とし、AKI の評価の標準化がなされている。ただし、Cr 値の変化は腎障害後 48 時間程度を要することから、より鋭敏で反応の早いバイオマーカーが求められている。

腎臓が虚血ストレスに曝されると、形成された過酸化脂質と肝臓型遊離脂肪酸結合蛋白 (liver-type fatty acid binding protein : L-FABP) は強く結合して原尿中に排出される。つまり、L-FABP は腎保護的に働くとともに、近位尿

1, 2) 〒143-8541 東京都大田区大森西 6-11-1

*Corresponding Author: tel: 03 (3762) 4151

e-mail: ochiai-r@med.toho-u.ac.jp

受付 : 2011 年 7 月 28 日, 受理 : 2011 年 11 月 29 日

東邦医学会雑誌 第 59 巻第 1 号, 2012 年 1 月 1 日

ISSN 0040-8670, CODEN: TOIZAG

細管での酸化ストレスすなわち虚血再灌流障害の指標となると考えられる。実際、虚血再灌流後L-FABPは4時間でピークとなることが報告されていることから、AKIにおける早期バイオマーカーとして、注目されている⁴⁾。

今回、腎虚血時間が特定できる腎移植術で、虚血時間と再灌流後に得られた初尿中のL-FABP値の関係を検討した。尿中のL-FABP値が、腎障害の有無とその程度を速やかに反映するバイオマーカーであることが確認できれば、虚血再灌流障害の早期診断、早期治療が可能となり、さらには治療成果の判定にも応用が可能と考えられる。

対象と方法

1. 対象

東邦大学医療センター大森病院で生体腎移植術を予定した成人ドナー、レシピエント8組を対象とした。本研究は、東邦大学医療センター大森病院の倫理委員会の承認後に、成人腎移植ドナーならびにレシピエントに研究の意義を説明後、書面にて承諾を得た(承認番号20-75)。

2. 麻酔管理

ドナー管理: ドナー患者のうち、肝障害・心不全・脳疾患などの既往のある患者は対象から除外した。ドナー患者の麻酔管理については、全静脈麻酔に硬膜外麻酔を併用した。全身麻酔の導入は、target controlled infusion (TCI) ポンプを用いてプロポフォール目標血中濃度を $5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ とし、ロクロニウム $0.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、フェンタニル $2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ を併用して行った。麻酔は、酸素 $2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 、空気 $2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 、レミフェンタニル $0.1 \sim 0.3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ 、プロポフォールの目標血中濃度を $2 \sim 3 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ で維持した。胸部硬膜外麻酔はTh10/11より穿刺後にカテーテルを挿入し、局所麻酔薬には0.375%ロピバカインを用いた。血圧低下時は、輸液負荷に加えて、エフェドリン、塩酸ドパミンを適宜使用し、平均血圧を術前血圧の $\pm 20\%$ に維持した。麻酔中のモニターには、日本麻酔科学会の標準的モニターに加えて、橈骨動脈カテーテルを挿入し、観血的動脈圧測定を行った。麻酔中の輸液には、晶質液と膠質液を用い、腎動脈切断までに約 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ の速度で行い、平均血圧を目標値に維持した。また、尿量を $8 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ 以上維持できるように輸液・循環管理を行った。

レシピエント管理: レシピエント患者の麻酔管理は、吸入麻酔に硬膜外麻酔を併用した。全身麻酔の導入は、プロポフォール $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、ロクロニウム $0.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、フェンタニル $2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ を用いた後に、気管挿管を行った。全身麻酔は、酸素 $2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 、空気 $2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 、セボフルレン2%、レミフェンタニル $0.1 \sim 0.3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ で維持した。硬膜外麻酔(Th 10/11)は局所麻酔薬に0.375%ロピバカインを用いた。ただし、ABO血液型不適合患者

は、手術直前に血漿交換を行うため、硬膜外穿刺・麻酔を行わなかった。モニターは日本麻酔科学会の標準的項目に加えて、橈骨動脈カテーテル、中心静脈カテーテルまたは肺動脈カテーテル、場合により経食道心エコー(transesophageal echocardiography: TEE)を用いた。麻酔中の循環管理には、カルペリチド(human atrial natriuretic peptide: hANP) $0.02 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ を使用し、移植腎への灌流圧を維持する目的で塩酸ドパミンを $2 \sim 5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ で持続投与した。輸液は晶質液 $15 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ を中心静脈圧(central venous pressure: CVP) 15 mmHgを目標に管理した。血流再開時には、収縮期血圧150 mmHg、肺毛細血管楔入圧(pulmonary capillary wedge pressure: PCWP) 18 mmHg、あるいはCVP 15 mmHgを目標として輸液負荷を行った。

3. 検体の採取とL-FABP測定

ドナーの採尿: ①全身麻酔導入後、導尿カテーテル挿入直後、②尿管切断直後の残腎からの尿、③手術終了時のタイミングで採取した。

レシピエントの採尿: ①血流再開後の初尿を術野から採取した。

それぞれ10 mLを採取し検体は冷凍保存し、酵素免疫測定法[ヒト型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)キット; シミック(株)、東京]を用いて後日濃度測定を行った。

なお、レシピエントの術後血清尿素窒素(blood urea nitrogen: BUN)値とCr値については、4病日まで測定を行った。

4. データ処理と統計学的解析

それぞれの尿中L-FABP値を尿中Cr値で補正した。測定値は、分散分析により統計処理し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。ドナーの術前尿中L-FABP値とレシピエント初尿中L-FABP値の比較にはpaired *t*検定を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

初尿中L-FABP値と虚血時間との相関関係を求める目的で、相関分析を行った。比較対象は、Cr値で補正した初尿中L-FABP値ならびに術前値からの増加率で検討した。なお、虚血時間はドナーの腎動脈切断からレシピエントの腎動脈に再灌流をするまでの時間(腎虚血時間1)ならびに初尿確認までの時間(腎虚血時間2)と定義した。

さらに、レシピエントの術後血清BUN値ならびにCr値の変化について、分散分析を用いて有意差の検定を行った。

結 果

1. 患者背景

年齢、身長、体重、性別、血液型マッチングについて表に示す(Table 1)。

2. 尿中L-FABP値 (Fig. 1)

ドナーの術前尿中L-FABP値($7.1 \pm 6.5 \mu\text{g} \cdot \text{gCr}^{-1}$)と

Table 1 Clinical characteristics of donors and recipients

	Donors	Recipients
Age (years)	60 ± 5.2	51 ± 2.5
Height (cm)	161.4 ± 11.8	163.3 ± 6.1
Body weight (kg)	58.9 ± 1.5	58.4 ± 10.4
Sex		
Male	4	5
Female	4	3
ABO matching	compatible	3
	mismatched	4
	incompatible	1

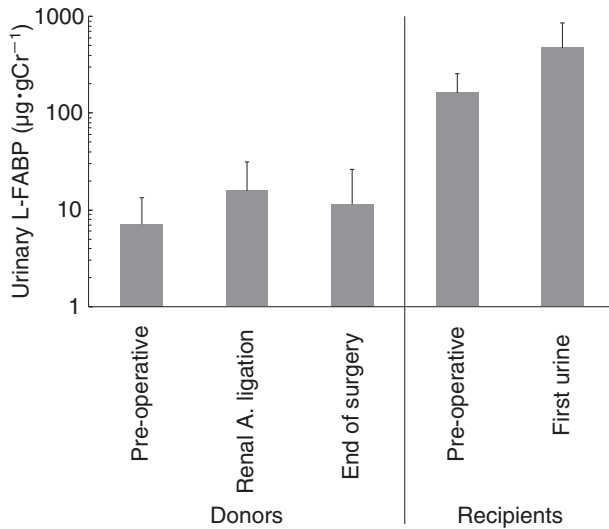


Fig. 1 Change in urinary liver-type fatty-acid binding protein (L-FABP) level during renal transplantation
 In donors, L-FABP level did not significantly change throughout surgery.
 In recipients, L-FABP level in the first urine after transplantation was significantly higher than the preoperative value in donors ($p < 0.05$).

比較し、レシピエントの初尿中L-FABP値 ($476.4 \pm 393.2 \mu\text{g} \cdot \text{gCr}^{-1}$)は有意に増加し、 170 ± 197 倍の上昇であった。

3. 初尿中L-FABPと虚血時間 (Fig. 2, 3)

レシピエント初尿中L-FABP値と腎虚血時間1ならびに2に相関は認められなかったが、増加率については、腎虚血時間1ならびに2と弱い相関(それぞれ $r = 0.674$, $p = 0.069$; $r = 0.691$, $p = 0.058$)が認められた (Fig. 2). なお, Fig. 3には、腎虚血時間1ならびに2との相関分析結果を示す。

4. レシピエントの術後血清BUNおよびCr変化 (Fig. 4)

血清BUN値は経時的に低下し、第1病日以降正常値となった。血清Cr値は経時的に低下したものの、第4病日

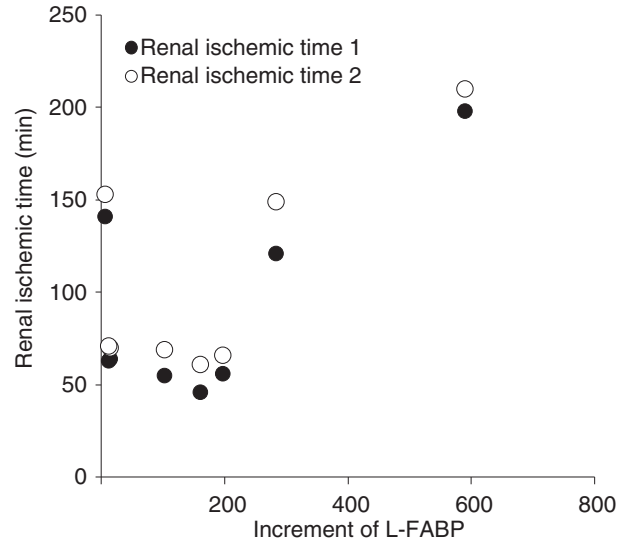


Fig. 2 Correlation between renal ischemic times 1 and 2 and increment in liver-type fatty-acid binding protein (L-FABP), as compared with preoperative values, in the initial urine of recipients.
 ● Renal ischemic time 1: duration between ligation of renal artery and renal reperfusion ($r = 0.674$; $p = 0.069$)
 ○ Renal ischemic time 2: duration between ligation of renal artery and first urine of recipients ($r = 0.691$; $p = 0.058$)

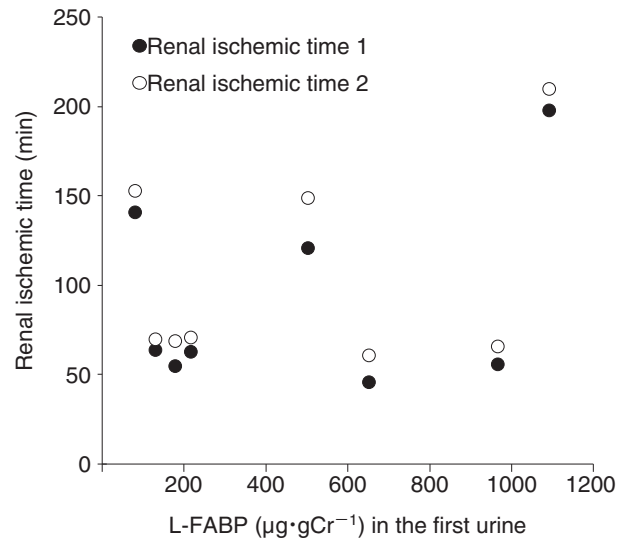


Fig. 3 Correlation between renal ischemic time and liver-type fatty-acid binding protein (L-FABP) level in first urine in recipients
 ● Renal ischemic time 1: duration between ligation of renal artery and renal reperfusion ($r = 0.107$)
 ○ Renal ischemic time 2: duration between ligation of renal artery and first urine of recipients ($r = 0.110$)

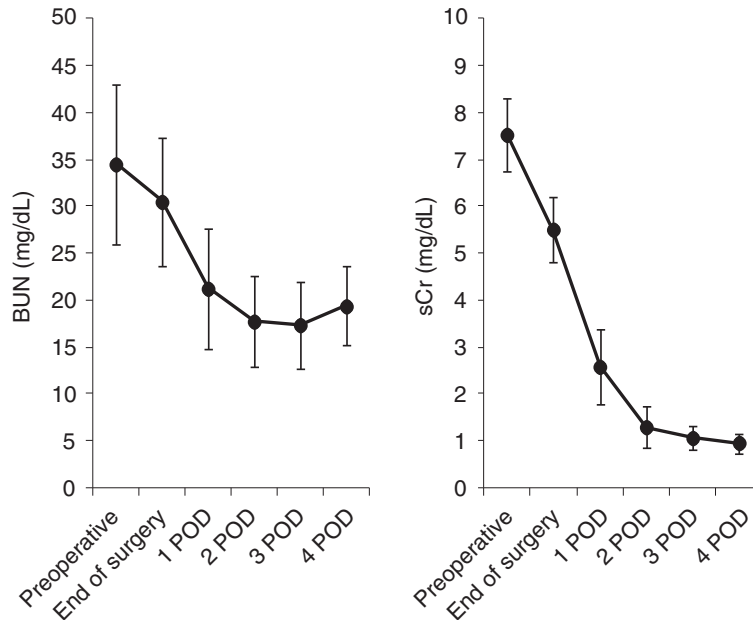


Fig. 4 Change in blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (sCr) values. BUN and creatinine (Cr) were significantly lower after surgery. POD: postoperative day

にも異常値を示したが、その後徐々に正常値に近づいた。

考 察

腎臓の虚血性障害は、大動脈手術や人工心肺を用いる心臓外科手術に際して、高頻度に見られる臓器障害であり、予後に影響を及ぼす可能性があり、早期診断と腎保護を目指した循環管理が重要である。一方で、血清Cr値をパラメータとした診断が一般的に用いられているものの、その変化には数日を要し、タイムリーな診断や治療効果の判定には不適當であることも指摘されてきた。そこで、早期に虚血性障害を発見するために種々のバイオマーカーが注目を浴びている。そのバイオマーカーとしては、urine N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) や β 2-microglobulin, neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule-1 (KIM-1) などが、精力的に検討されているが、それぞれに腎障害部位やその機転が異なることから特定の結論には至っていない^{4,5)}。特に、虚血再灌流障害からの経時的な変化については、いまだに一定の結論が得られていない。

これらのバイオマーカーの中で、L-FABP は、細胞内のエネルギー・脂質代謝および疎水性リガンドの輸送を担う分子量約 14 kDa の可溶性蛋白である。組織特異的な複数のサブタイプが存在し、なかでも L-FABP は肝臓、小腸、腎臓などに発現するが、特にヒトでは腎近位尿細管に特異的に発現する。最大の特徴は腎臓の近位尿細管の酸化ストレス障害を反映するとされている点である。通常体内の遊

離脂肪酸はアルブミンと結合し糸球体で濾過された後、近位尿細管で再吸収されてアルブミンと遊離する。遊離した脂肪酸は L-FABP によって β 酸化の場であるミトコンドリアに運ばれる。しかし、腎臓の虚血・再灌流障害などの酸化ストレスが生じると遊離脂肪酸は容易に細胞毒性をもつ過酸化脂質に変換され、L-FABP は生成された過酸化脂質と強く結合して原尿中へ排出される。つまり、L-FABP は腎保護的に働くとともに、近位尿細管での酸化ストレスすなわち虚血再灌流障害の指標となると考えられる^{6,7)}。このため、AKI の早期診断に有用なバイオマーカーとして L-FABP は位置づけられつつある⁸⁾。ただし、L-FABP の濃度が、虚血再灌流障害の程度を反映するか、L-FABP の濃度により AKI を予知できるかに関しては結論が出ていない。

腎移植術は、虚血時間が特定できる点で、腎障害を検討する際には理想的なモデルと考えられる。実際、Yamamoto et al. は、10 例の生体腎移植術に際して、各種バイオマーカーの変化を測定し、L-FABP と虚血時間の相関が高いことから ($r=0.939$)、虚血再灌流障害を検討する際には、最適のバイオマーカーである可能性を示唆している⁹⁾。ただし、虚血時間を腎動脈切断から初尿採取までとしている点で、必ずしも虚血時間を正確に評価していない可能性は否定できない。

本研究で、ドナーの術前尿中 L-FABP と比較し、レシピエント初尿中 L-FABP が有意な、そして高度な上昇を認めたことは、L-FABP が血流再開後に尿細管における虚血障害を反映したものと考えられる。つまり、大量に発

生した過酸化脂質を中和するためにL-FABPが速やかに産生されることが推測された。一方、前述したYamamoto et al.の報告とは異なり、尿中L-FABP濃度と虚血時間には相関が認められなかった。Yamamoto et al.の研究では、虚血時間を初尿採取までとしているが、手術中に正確に初尿のタイミングを確認することは困難であると考えられる。本研究では、腎動脈結紮から血流再開までを虚血時間2として検討したが、尿中L-FABP値ではなく、その増加率と弱い相関が認められた。虚血再灌流障害の程度に影響する因子として、虚血時間だけではなく、再灌流時の腎灌流圧(血圧)やドナーの手術操作(腹腔鏡手術:2件)なども考えられる。さらに、動物実験で腎虚血に際して、プレコネディショニング効果が報告されている吸入麻酔やhANP、麻薬などの使用¹⁰⁾、血液型のマッチングなども影響する可能性がある。本研究で、虚血時間と尿中L-FABP値の相関が認められなかったことは、虚血時間以外の虚血再灌流障害の程度に影響する因子の存在を示唆するものと考えられる。

L-FABPは腎保護的に働くことから、L-FABP値が高いほど虚血再灌流障害時に腎臓が保護されているとも考えられる¹¹⁾。本研究では、術後血清BUNおよびCr値は徐々に正常化し、腎不全に移行した症例はみられなかった。これよりL-FABP値の上昇は、虚血再灌流障害の存在を示すが、その変化と術後の移植成績との関連性の有無については今後の検討が必要と考える。

本研究では、虚血早期の反応を確認するために、初尿中のL-FABPを検討対象とした。Thurman et al.や、Portilla et al.は心臓外科手術後にAKIとなった患者のバイパス後の尿中L-FABPは4時間後に最高値を示し、その後低下していくと報告している^{4,6)}。今後は、腎障害の程度を評価する意味で、L-FABPを測定するタイミングについても、十分な検討が必要であると考えられる。

本研究では、腎移植術で尿中L-FABPの変化を検討したが、虚血・再灌流障害を受けた直後の早期の段階から上昇していたことと、採尿という簡易的な手段で計測できたことから臨床的意義が高いことが示唆された。今後はより

症例数を増やすことによって、虚血時間とL-FABPの関係をより精密に評価することが必要と考えた。さらに尿中L-FABPを用いて、腎障害保護薬剤の評価や麻酔方法の評価に有用となる可能性が考えられた。

本論文の要旨は、日本麻酔科学会第56回学術集会(2009年、神戸)において発表した。本研究では、東邦大学医療センター大森病院腎センター高須二郎先生にご協力頂いた。ここに、深謝の意を表します。

文 献

- 1) Barratt J, Parajasingam R, Sayers RD, et al: Outcome of acute renal failure following surgical repair of ruptured abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **20**: 163-168, 2000
- 2) Ostermann ME, Taube D, Morgan CJ, et al: Acute renal failure following cardiopulmonary bypass: A changing picture. *Intensive Care Med* **26**: 565-571, 2000
- 3) Silvester W, Bellomo R, Cole L: Epidemiology, management, and outcome of severe acute renal failure of critical illness in Australia. *Crit Care Med* **29**: 1910-1915, 2001
- 4) Thurman JM, Parikh CR: Peeking into the black box: New biomarkers for acute kidney injury. *Kidney Int* **73**: 379-381, 2008
- 5) Ferguson MA, Vaidya VS, Waikar SS, et al: Urinary liver-type fatty acid-binding protein predicts adverse outcomes in acute kidney injury. *Kidney Int* **77**: 708-714, 2010
- 6) 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* **73**: 465-472, 2008
- 7) 菅谷 健: 注目される新しい検査: 尿細管マーカー, 尿中L型脂肪酸結合蛋白(L-FABP). *Med Technol* **37**: 584-587, 2009
- 8) Noiri E, Doi K, Negishi K, et al: Urinary fatty acid-binding protein I: An early predictive biomarker of kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* **296**: F669-679, 2009
- 9) Yamamoto T, Noiri E, Ono Y, et al: Renal L-type fatty acid-binding protein in acute ischemic injury. *J Am Soc Nephrol* **18**: 2894-2902, 2007
- 10) Lee HT, Ota-Setlik A, Fu Y, et al: Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia-reperfusion injury *in vivo*. *Anesthesiology* **101**: 1313-1324, 2004
- 11) Nakamura T, Sugaya T, Koide H: Urinary liver-type fatty acid-binding protein in septic shock: Effect of polymyxin B-immobilized fiber hemoperfusion. *Shock* **31**: 454-459, 2009

Dynamics of Urinary Liver-Type Fatty Acid Binding Protein during Living Related Renal Transplantation

Yuko Kawamura¹⁾ Yoshimi Maemura¹⁾ Takashi Terada¹⁾
Ryoichi Ochiai¹⁾ Takashi Kawamura²⁾ and Atsushi Aikawa²⁾

¹⁾1st Department of Anesthesiology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Toho University

²⁾Department of Nephrology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Toho University

ABSTRACT

Background: Free liver-type fatty acid binding protein (L-FABP) is a soluble protein with a molecular weight of approximately 14 kDa and is responsible for the transport of intracellular energy, lipid metabolism, and hydrophobic ligands. It reflects oxidative stress in renal proximal convoluted tubules. We evaluated the relation between renal ischemic time and urinary L-FABP values after renal reperfusion during kidney transplantation surgery.

Methods: We assessed 8 adult donor-recipient pairs who were scheduled for living related kidney transplantation. Urinary L-FABP was measured before surgery, immediately after ligation of the ureter, and after completion of surgery in donors, and before surgery and in the first urine after renal reperfusion in recipients. Preoperative urinary L-FABP in donors and in the first urine of recipients was compared by using the paired *t* test; $p < 0.05$ was considered statistically significant. The correlation between urinary L-FABP in the first urine of recipients and renal ischemic time was examined by using correlation analysis.

Results: As compared with preoperative values ($7.1 \pm 6.5 \mu\text{g} \cdot \text{gCr}^{-1}$) in donors, L-FABP ($476.4 \pm 393.2 \mu\text{g} \cdot \text{gCr}^{-1}$) in the first urine of recipients was significantly higher. Its correlation with renal ischemic time was low ($r = 0.1069$), but the increment in L-FABP was weakly correlated ($r = 0.6740$) with renal ischemic time.

Conclusions: The present study showed that urinary L-FABP was higher immediately after renal ischemia-reperfusion injury during renal transplantation surgery, which indicates that it might be a good biomarker of acute kidney injury (AKI).

J Med Soc Toho 59 (1): 9–14, 2012

KEYWORDS: liver-type fatty acid binding protein (L-FABP), ischemia-reperfusion injury, acute kidney injury (AKI), kidney transplantation surgery, biomarker