

博士論文

集中治療領域における急性腎障害バイオマーカーの有用性

山 下 徹 志

1. 目次 .....	2
2. 要旨 .....	3
3. 略語一覽 .....	4
4. 序文 .....	6
5. 目的 .....	13
6. 方法 .....	15
7. 結果 .....	21
8. 考察 .....	49
9. 結論 .....	62
10. 引用文献 .....	63
11. 謝辞 .....	75

## 「要旨」

AKI は死亡率が有意に上昇する症候群であり、早期診断と予後予測に有用なバイオマーカーが必要とされている。本研究では集中治療領域における AKI バイオマーカーの性能を評価した。尿中 TIMP-2 は ICU 入室時の測定値が AKI を診断し、院内死亡も予測することを明らかとした。しかし、持続的腎代替療法開始時の測定は有用ではなかった。血漿 NGAL は ICU 入室時の測定値が AKI を診断するのみならず、持続的腎代替療法開始時の測定値も腎予後を予測した。AKI においては、エリスロポエチンは貧血と独立して内因性の産生が亢進しており、それに関連する物質として血漿 IGFBP1 を同定した。これらのバイオマーカー測定に基づく介入が、治療薬の開発の一助になることが期待される。

## 「略語一覧」

AKI	Acute Kidney Injury, 急性腎障害
TIMP-2	tissue inhibitor of metalloproteinases-2
ICU	Intensive Care Unit
NGAL	neutrophil gelatinase- associated lipocalin
IGFBP	insulin-like growth factor-binding protein
ARF	Acute Renal Failure, 急性腎不全
ADOQI	Acute Dialysis Quality Initiative
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
CKD	Chronic Kidney Disease, 慢性腎臓病
L-FABP	liver-type fatty acid-binding protein
KIM-1	kidney injury molecule-1
IL	interleukin
HIF	hypoxia-inducible factor
EPO	エリスロポエチン
NAG	N-acetyl- $\beta$ -D- glucosaminidase
CCU	coronary care unit
APACHE	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
GFR	glomerular filtration rate
ACCP	American College of Chest Physicians
SCCM	Society of Critical Care Medicine Consensus
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
4-HP-NAG	4-ヒドロキシメチル-2-ピリジニル 2- (アセチルアミノ) -2-デオキシ-1-チオ- $\beta$ -D-グルコピラノシド
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
ROC	receiver operating characteristic
NRI	net reclassification improvement
IDI	integrated discrimination improvement
PaO <sub>2</sub>	partial pressure of oxygen
AUC-ROC	area under the ROC curve
CI	confidence interval,
MAKE	major adverse kidney events

$FiO_2$  fraction of inspiratory oxygen

MMP matrix metalloproteinase

FDA U.S. Food and Drug Administration

## 「序文」

### 急性腎不全から急性腎障害へ

第二次世界大戦中に挫滅症候群の症例が急性腎不全 (Acute Renal Failure, ARF) について記述した論文として初めて報告されたものの[1], 急性腎不全の定義に国際的なコンセンサスは得られておらず, 血清クレアチニンの倍加や 2.0~2.5 mg/dL 以上へ急速に上昇したものなど、文献上少なくとも 35 以上の異なる定義が存在していた[2]。定義により急性腎不全の発症率や死亡率が大きく異なるため、急性腎不全に関する疫学的研究の結果を比較するのは非常に困難であり、臨床研究の進捗を妨げる大きな理由の一つであった。このような状況が懸念され、集中治療医と腎臓内科医からなるグループである Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) が、急性腎不全の定義の統一を目標として RIFLE 基準を 2004 年に発表した[3]。さらに心臓手術後の急性腎不全において、わずか 0.3~0.5 mg/dL 程度の血清クレアチニンの増加が 30 日死亡率などの長期的な予後の悪化と関連することが報告され[4], 旧来の急性腎不全を包含し、かつより早期の腎臓における組織・細胞障害をも包含する概念である急性腎障害 (Acute Kidney Injury, AKI) が提唱された[5]。そして 2012 年には KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) により急性腎障害の臨床ガイドラインが作成され、KDIGO に

よる AKI 診断基準が提示された (Table 1) [2]。

Table 1. KDIGO 基準による AKI のステージング

	血清 Cre	尿量
Stage1	0.3mg/dl 以上の上昇 1.5 倍以上の上昇	0.5ml/kg/h 未満が 6 時間以上持続
Stage2	2 倍以上の上昇	0.5ml/kg/h 未満が 12 時間以上持続
Stage3	3 倍以上の上昇 4mg/dl 以上への上昇 腎代替療法の開始	0.3ml/kg/h 未満が 24 時間以上持続 無尿が 12 時間以上持続

### AKI の臨床的重要性

統一された定義が提唱されたことにより, AKIに関する疫学的研究が進展し, それまで想定されていた以上に臨床的アウトカムに大きな影響を及ぼすことが明らかになってきた。AKIは, 入院患者の約 20%, intensive care unit (ICU) 入室患者の約 50%に発症し[6, 7], 重症度に応じて死亡率を上昇させ, 最重症である Stage3 では死亡率 50%近くに達する[8]。また以前は可逆的と考えられていた

AKI は、重症度、背景因子に応じ、腎機能が完全に回復することなく慢性腎臓病（Chronic Kidney Disease, CKD）へ移行することもあるれば、みかけ上腎機能が回復したとしてもその後の慢性腎臓病の発症リスクが高いことも報告された[9]。さらには、長期的な死亡率をも上昇させることも指摘され、急性心筋梗塞を合併した患者よりも AKI を合併した患者の方が退院後の死亡率が高いことが報告されている[10]。

#### **AKI とバイオマーカー**

いくつかの薬物が動物モデルにおいて AKI の予防・治療に有効であったが、現状では治療薬として十分な臨床効果が確立された薬物は存在していない。これは、AKI に対する新規治療薬開発のために行われた臨床研究においてエントリー基準に血清クレアチニンを用いられることが多く、腎機能が低下することに先行して生じている尿細管上皮細胞障害の段階での治療介入がなされていなかったこと、AKI は多様な病態が原疾患となりうる症候群であり、臨床研究の対象が均一でなく heterogeneity が高いことなども原因として考えられている。尿細管上皮細胞障害を鋭敏に検出することで血清クレアチニンより早期に AKI を診断し、適切なタイミングでの治療介入を可能とする新規バイオマーカー



一や、原疾患の病態に特異的で、研究対象の均一性の確保を可能とする新規バイオマーカーが期待され研究が進められている。これまでに neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), L-type fatty acid-binding protein (L-FABP), kidney injury molecule-1 (KIM-1), interleukin-18 (IL-18), シスタチン Cなどを ICU 入室時や術直後に測定することで AKI の発症や死亡率を予測することが可能であると報告されている[11-14]。またバイオマーカー毎に傷害発生からの時間経過による推移が異なることも明らかになった[15]。例えば、NGAL とシスタチン C は傷害発生後数時間のタイミングで AKI 症例では上昇が確認され、その後数日間高値が持続するのに対して、KIM-1 と IL-18 は傷害発生後後数時間のタイミングで上昇が確認されるが、24 時間程度で低下する。

#### **AKI に対する新規バイオマーカーとしての TIMP-2**

2013 年に Kashani らは、340 の AKI バイオマーカーの候補物質を  $n=522$  のコホートで検証することで、尿中 tissue inhibitor of metalloproteinases-2 (TIMP-2), 尿中 insulin-like growth factor-binding protein 7 (IGFBP7) , 及びそれらのコンビネーション（それぞれの値の積）が、成人 ICU 患者においてサンプル採集から 36 時間以内の重症 AKI の発症を予測するのに有用であることを報告した[16]。

Kashani らは同時に別の  $n=728$  の成人 ICU 患者のコホートにおいても検証し、尿中 TIMP-2 及び IGFBP7 が、血漿/尿中 NGAL、血漿シスタチン C、尿中 KIM-1、尿中 IL-18、尿中 L-FABP といったこれまで研究されているバイオマーカーと比較して、サンプル採集後 12 時間以内の重症 AKI の発症をより高い精度で予測したことを報告している。また尿中 TIMP-2、IGFBP7 の高値は、AKI の発症のみならず、30 日後の死亡、遷延する腎機能の低下からなる複合エンドポイントの発症をも予測した。尿中 TIMP-2 の上昇が腎実質の障害を反映していることは容易に想像されるが、近年の基礎研究により、AKI において細胞周期制御因子が重要な役割を果たしていることが報告されており [17]、これら 2 つの蛋白はいずれも発現の増加により G1 での細胞周期停止をもたらすことで腎保護的に働くと考えられている。したがって、尿中 TIMP-2 の上昇は代償性の保護作用を反映している可能性がある。

### **AKI とエリスロポエチン**

糸球体疾患や薬剤など様々な原因で AKI は発生しうるが、ICU において AKI を最も高頻度に来たす原因は低灌流・低酸素による虚血性障害と敗血症による炎症性障害であり、これらが 2/3 程度を占める [18]。敗血症性 AKI は多様な機序

に基づいて発症していると考えられているが、血圧低下のエピソードと AKI の発症率に関連があることから、虚血性障害も大きなウェイトを占めていると考えられている。エリスロポエチンは貧血によってその産生が増加することが知られているが、低酸素により活性化された HIF (hypoxia-inducible factor, 低酸素誘導因子) を介して、腎臓の尿細管間質細胞にて産生されることが近年明らかとなった[19]。したがって、尿細管間質の障害が主体である AKI においては貧血・低酸素による EPO 産生刺激が十分に作用せず、腎機能正常例と比較してエリスロポエチン濃度の上昇が不十分である可能性が考えられる。一方、強力な細胞増殖因子であるエリスロポエチン (EPO) を外因性に投与することは、動物モデルにおいて非造血効果を介し AKI を軽減させることが報告されている[20-22]。しかし、その後行われたヒト臨床研究では外因性のエリスロポエチン投与は AKI に対して保護的効果を示さなかった[23]。ヒト AKI 症例におけるエリスロポエチン濃度と産生に関与する因子は十二分に検討されておらず、AKI におけるエリスロポエチン産生が間接的に腎障害を反映するバイオマーカーになりうるという仮説のもと、検討を進めることとした。

IGFBP1(insulin-like growth factor-binding protein 1)は主に肝臓により産生され、ICU 入室患者においてインスリン抵抗性を反映して重症度に応じて高値となる

ことが知られている[24]。インスリンによりその産生は抑制され、HIFの活性化や炎症性サイトカインであるIL-1 $\beta$ 、IL-6により産生が刺激される[25, 26]。いわゆるストレス反応性マーカーであるが、エリスロポエチンと同様にHIF活性化を介した産生亢進があることから、炎症に加えて腎以外の臓器における低酸素反応をモニターする可能性があると考え、本研究において検討することとした。

## 「目的」

本研究では、まず AKI 発症早期に相当する ICU 入室コホートにおいて、細胞周期停止バイオマーカーである尿中 TIMP-2 の診断精度を評価するとともに、その特徴を明らかにするために、他の経路により産生が刺激されるバイオマーカーと比較した。比較するバイオマーカーとしては、炎症により産生刺激されるものとして血漿 NGAL 及び血漿 interleukin-6 (IL-6)、虚血により産生刺激されるものとして血漿エリスロポエチン、尿細管上皮細胞の細胞障害マーカーとして尿中 N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) を検討した。臨床において、敗血症は ICU で発生する AKI の 50%以上に合併しており[27]、最も重要な併存疾患であるため、サブグループ解析を施行することにより敗血症の合併の有無がバイオマーカーに与える影響を評価した。

次に、AKI が確立した晩期に相当する持続的腎代替療法開始コホートにおいて、血漿 NGAL、尿中 TIMP-2、尿中 NAG の死亡、及び腎予後の予測能を評価した。このコホートは AKI が高度に進展して腎代替療法が必要となった症例をエントリーし、治療開始時の測定値を評価した。ICU において重症 AKI を呈した症例であり、全例が間歇的な血液透析ではなく持続的血液濾過透析が施行されている。

腎臓においてのみ産生されるホルモンであるエリスロポエチンの血漿濃度は、間接的な腎障害の指標となると考えられる。ICU 入室患者において貧血以外にエリスロポエチン産生を規定する因子を同定することを目的とし、IGFBP1 を含めた複数の因子を検討した。

## 「方法」

### 研究の対象

#### ICU 入室コホート

2011 年 7 月から 11 月までに東京大学医学部附属病院 ICU に入室した連続 100 の成人症例を対象とした。末期腎不全の症例を 1 例，臨床データが不十分であった症例を 1 例除外したため，最終的には 98 例が解析対象となった。

#### 持続的腎代替療法開始コホート

2013 年 10 月から 2015 年 3 月までに東京大学医学部附属病院 ICU にて持続的腎代替療法が施行された全 125 の成人症例を対象とした。末期腎不全の症例 27 例を除外したため，最終的には 98 例が解析対象となった。

### 研究デザイン

本研究は前向きにコホートを設定し，後ろ向きに解析を行った。年齢，性別，糖尿病の合併，高血圧の合併，入室前の手術の有無，血清クレアチニン，APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) II スコア (Supplementary Table 1) [28]を臨床情報としてカルテより記録した。AKI は ICU 入室時から 7 日後までの血清クレアチニンの値に基づき KDIGO ガイドライン[2]の血清クレアチニ

Supplementary Table 1. APACHE II スコア

生理学的変数†	点数								
	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
1 深部体温 (°C)	≥ 41°	39–40.9°	—	38.5–38.9°	36–38.4°	34–35.9°	32–33.9°	30–31.9°	≤29.9°
2 平均動脈圧 (mmHg)	≥160	130–159	110–129	—	70–109	—	50–69	—	≤ 49
3 心拍数	≥180	140–179	110–139	—	70–109	—	55–69	40–54	≤ 39
4 呼吸数	≥ 50	35–49	—	25–34	12–24	10–11	6–9	—	≤ 5
5 酸素化能 :									
a) FiO <sub>2</sub> ≥ 0.5 の場合, A-aDO <sub>2</sub>	≥ 500	350–499	200–349	—	< 200	—	—	—	—
b) FiO <sub>2</sub> < 0.5 の場合, PaO <sub>2</sub> (mmHg)	—	—	—	—	> 70	61–70	—	55–60	< 55
6 動脈血 pH	≥ 7.7	7.6–7.69	—	7.5–7.59	7.33–7.49	—	7.25–7.32	7.15–7.24	< 7.15
7 血清 Na 濃度 (mMol/L)	≥ 180	160–179	155–159	150–154	130–149	—	120–129	111–119	≤ 110
8 血清 K 濃度 (mMol/L)	≥ 7	6–6.9	—	5.5–5.9	3.5–5.4	3–3.4	2.5–2.9	—	< 2.5
9 血清クレアチニン濃度 (mg/dL)	≥ 3.5	2–3.4	1.5–1.9	—	0.6–1.4	—	< 0.6	—	—
10 Hct (%)	≥ 60	—	50–59.9	46–49.9	30–45.9	—	20–29.9	—	< 20
11 WBC	≥ 40000	—	20000–39900	15000–19900	3000–14900	—	1000–2900	—	< 1000
12 グラスゴー昏睡尺度 (GCS)	15 から GCS を減じた値								
13 血清 HCO <sub>3</sub> (静脈血, mMol/L)	≥ 52	41–51.9	—	32–40.9	22–31.9	—	18–21.9	15–17.9	< 15

急性生理学的スコアは上記の 1-12 の各項目の ICU 入室 24 時間以内の最悪の点数の和である。

pH 不明の際は血清 HCO<sub>3</sub> で代替する

急性腎不全の症例では 9 の点数を 2 倍にする

年齢によって各点数を加算する :

44 歳以下 0 点, 45-54 歳 2 点, 55-64 歳 3 点 ; 65-74 歳 5 点, 75 歳以上 6 点

慢性疾患状態の点数を加算する :

免疫不全状態または重度の臓器機能不全の病歴を有する際は待期的手術後の症例には 2 点, 非術後または緊急手術後の患者には 5 点



ン基準のみを用いて診断した。すなわち、48 時間以内の血清クレアチニンの 0.3 mg/dL 以上の上昇、もしくは7日以内のベースラインの血清クレアチニンからの 50%以上の上昇を満たす場合に AKI と診断した。ベースラインの血清クレアチニンは、入院より 6 か月以内の外来での血清クレアチニン値、ICU 入室前の入院中の血清クレアチニン値、退院前最後の血清クレアチニン値のうち最小のものと定義した。ICU 入室より 6 か月以内の血清クレアチニン値が不明の症例では、KDIGO ガイドラインが提案しているように推算糸球体濾過量 (estimated glomerular filtration rate, eGFR)  $75 \text{ ml/min/1.73m}^2$  より日本人の推算糸球体濾過量計算式[29]を用いて逆算した血清クレアチニン値と退院前最後の血清クレアチニン値のうち小さいものとした。重症 AKI は、KDIGO ガイドラインの血清クレアチニン基準により Stage2, Stage3 と診断されたものと定義した (Table 1 参照)。

ICU 入室時には AKI と診断されなかったものの、ICU 入室後 7 日までに AKI の定義を満たしたものを “late-onset AKI” と定義した。また、ICU 入室後 7 日までに、ICU 入室時に診断されたステージよりステージが進行したものを “progression of AKI” と定義した。敗血症は ACCP (American College of Chest Physicians) / SCCM (Society of Critical Care Medicine Consensus) コンセンサスガイドラインに基づいて定義した[30]。

## バイオマーカーの測定

ICU 入室コホートでは ICU 入室時に、持続的腎代替療法開始コホートでは持続的腎代替療法開始時に尿と血液を同時に採取した。遠心後、血漿及び尿の上清を-80℃にて凍結保存し、測定時に溶解し使用した。両コホートにて、尿中 TIMP-2、尿中 NAG、血漿 NGAL を測定した。ICU 入室時コホートではさらに血漿 EPO、血漿 IL-6、血漿 IGFBP1 を測定した。尿中 TIMP-2 と血漿 IL-6 は研究用の ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法キット (R&D システムズ, アメリカ合衆国ミネソタ州ミネアポリス; 東レ, 神奈川県鎌倉市) と用いて測定した。尿中 NAG は 4-HP-NAG (4-ヒドロキシメチル-2-ピリジニル 2- (アセチルアミノ) -2-デオキシ-1-チオ-  $\beta$ -D-グルコピラノシド) 基質法 (L タイプワコー NAG; 和光純薬工業, 大阪府大阪市) を用いて東京大学医学部附属病院中央検査室にて測定した。血漿 NGAL は Triage NGAL テストキット (アリーアメディカル, アメリカ合衆国カリフォルニア州サンディエゴ) を用いて測定した[31]。血漿 EPO、血漿 IGFBP1 は human hypoxia multiplex kit (メソスケールディスカバリー, アメリカ合衆国メリーランド州ロックビル) と測定機器である MSD2400 (メソスケールディスカバリー, アメリカ合衆国メリーランド州ロックビル) を用いて測定した。

## 統計解析

データは平均±標準偏差で表記し、正規分布でないものは中央値（四分位範囲）で表記した。連続変数の比較には Wilcoxon の順位和検定もしくは Kruskal–Wallis 検定を用いた。Kruskal–Wallis 検定にて有意差を認めた際には Steel–Dwass 法を用いて *post hoc* 比較を行った。カテゴリー変数は割合で表記し、その比較には Pearson の  $\chi^2$  検定もしくは両側の Fisher の正確検定を用いた。

バイオマーカーのパフォーマンス評価には receiver operating characteristic (ROC) 解析を行った。ROC 曲線の比較にはブートストラップ法もしくは DeLong 法を用いた[32, 33]。バイオマーカーを測定することが、臨床情報のみの場合と比較し、重症 AKI 及び院内死亡率の予測を改善させるか評価するために、continuous net reclassification improvement (NRI) index と integrated discrimination improvement (IDI) index を計算した[34, 35]。イベント発生症例、イベント非発生症例それぞれについて、対照モデル、及び新モデルにてイベントの発生リスクを計算する。

特定の発生リスクをカットオフとして、低リスク群と高リスク群に分類し、新モデルの方がより正しく分類できた症例数から、誤って分類した症例数を減じたものを割合表記したものが NRI index であり、continuous NRI index はカットオフを設定せず、発生リスクを改善した症例数から改悪した症例数を減じたもの

を割合表記したものである。IDI index はイベント発生症例の新モデルの発生リスクと対照モデルの発生リスクの差の全症例の合計から、イベント非発生症例の新モデルによる発生リスクと対照モデルによる発生リスクの差の全症例の合計を減じたものである。これらの手法は、新たな検査指標を加えることで予測モデルの改善が得られたかどうかを評価するものであり、バイオマーカーのパフォーマンスを評価する方法として近年広く用いられるようになった。統計解析には、統計解析ソフトとして JMP Pro 11.0.0 (SAS Institute, アメリカ合衆国ノースカロライナ州ケリー) 及び R 3.1.1 (R Foundation for Statistical Computing, オーストリアウィーン)を使用した。帰無仮説は  $p < 0.05$  で棄却した。

## **倫理と同意**

本研究のプロトコルは東京大学医学部倫理委員会により承認された（倫理番号 2810）。研究の対象とした全症例において、患者本人もしくは家族より書面によりインフォームドコンセントを取得した。

## 「結果」

### ICU 入室コホートの基礎データとアウトカム

ICU 入室コホートの基礎データ及びアウトカムを Table 2 に記載する。AKI は 42 症例（42.9%）で発生し，そのうち 27 症例が KDIGO stage2 もしくは 3 に該当する重症 AKI であった。AKI が発生しなかった群と比較し，AKI が発生した群では，より高齢であり，糖尿病の合併率が高かった。41 症例（41.8%）は敗血症を合併しており，敗血症の合併は AKI の発生と有意に関連していた。APACHE II スコアは AKI 発生群で有意に高値であった。コホート全体における院内死亡率は 15.3%であり，AKI 発生群で有意に高かった。

42 症例の AKI のうち，9 症例（21.4%）は ICU 入室時には AKI と診断されないものの，その後血清クレアチニンの上昇を認め，ICU 入室後 7 日までに AKI と診断された（late-onset AKI）。16 症例は ICU 入室後 7 日までに AKI の重症度の進行を認めた（progression of AKI）。

Table 2. ICU 入室コホートの基礎臨床データとアウトカム

	非 AKI (n=56)	AKI (n=42)	p 値
年齢(歳)	63 (43–76)	69 (60–76)	.046
男性, n (%)	37 (66.1%)	34 (81.0%)	.116
糖尿病 n (%)	6 (10.7%)	15 (35.7%)	.005
高血圧, n (%)	20 (35.7%)	20 (47.6%)	.300
入室経路, n (%)			.027
待機手術	12 (21.4%)	2 (4.8%)	
緊急手術	9 (16.1%)	4 (9.5%)	
内科	35 (62.5%)	36 (85.7%)	
敗血症, n (%)	15 (26.8%)	26 (61.9%)	< .001
入室時主要疾患, n (%)			
冠動脈疾患	0 (0%)	0 (0%)	1.000
腸管壊死	3 (5.4%)	1 (2.4%)	.633
肝硬変	0 (0%)	7 (16.7%)	.002
脳卒中	4 (7.1%)	3 (7.1%)	1.000
外傷	8 (14.3%)	1 (2.4%)	.074
SIRS 陽性項目数	2 (2–3)	3 (3–4)	.004
ベースライン血清 Cre (mg/dL)	0.65 (0.46–0.79)	0.68 (0.49–0.95)	.213
ベースライン eGFR (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	95.9 (79.4–125.7)	79.4 (63.0–131.6)	.101
ICU 入室時血清 Cre (mg/dl)	0.70 (0.52–0.89)	1.46 (0.99–2.87)	< .001
ヘモグロビン (g/dL)	11.5 ± 2.6	10.7 ± 2.6	.091
フェリチン (ng/mL)	139 (45–295)	513 (165–1937)	< .001
乳酸 (mmol/L)	2.4 (1.5–4.3)	3.3 (2.3–6.00)	.012
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	128 (88–174)	101 (83–150)	.074
APACHE II スコア	14.5 ± 8.1	27.0 ± 8.5	< .001
院内死亡, n (%)	4 (7.1%)	11 (26.2%)	.012
ICU 入室期間 (日)	5 (3–8)	9 (5–17)	.001

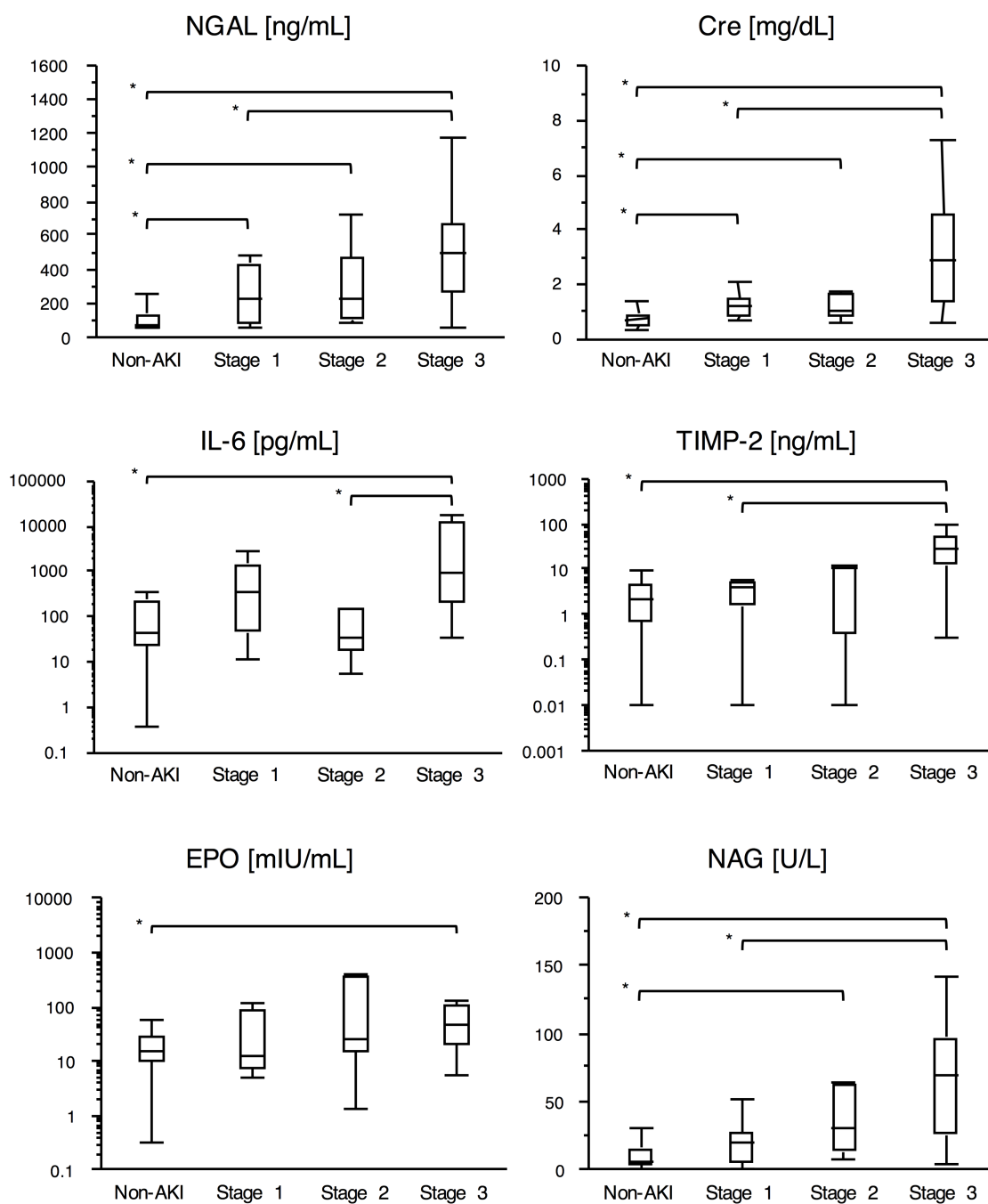
## AKI とバイオマーカー

Table 3 に記載してあるように全てのバイオマーカーが AKI グループにおいて有意に高値であった。血漿 NGAL 及び尿中 NAG は AKI の重症度を反映し、ステージに応じて増加を認めた (Figure 1) [36]。AKI の診断能について ROC 解析を施行したところ、Table 4 に示すように血漿 NGAL と尿中 NAG は他のバイオマーカーと比較し、ROC 曲線下面積 (area under the ROC curve, AUC-ROC) が有意に高値であった。重症 AKI に対しても同様に解析を行い、血漿 NGAL と尿中 NAG が高い ROC 曲線下面積を示した。

Table 3. ICU 入室コホートにおける ICU 入室時のバイオマーカーの値

	非 AKI (n=56)	AKI (n=42)	<i>p</i> 値
血漿 NGAL (ng/mL)	80 (60–142)	322 (157–540)	< .0001
血漿 IL-6 (pg/mL)	45.1 (22.9–226.3)	322.4 (70.3–5150.6)	.0002
血漿 EPO (mIU/mL)	16.1 (9.9–28.5)	27.8 (10.8–106.0)	.012
尿中 TIMP-2 (ng/mL)	2.08 (0.72–4.59)	10.85 (2.23–34.60)	< .0001
尿中 NAG (U/L)	5.9 (3.1–15.0)	31.8 (14.1–71.4)	< .0001

Figure 1. AKI のステージとバイオマーカー



non-AKI [ $n = 56$ ], stage 1 [ $n = 15$ ], stage 2 [ $n = 7$ ], stage 3 [ $n = 20$ ]). \* $p < .05$



Table 4. AKI 診断に対する ROC 曲線下面積 (95%信頼区間)

	AKI	重症 AKI	敗血症性 AKI	敗血症性重症 AKI
血漿 NGAL	0.84 (0.74–0.91) <sup>*</sup>	0.87 (0.76–0.93) <sup>*</sup>	0.94 (0.88–0.97) <sup>§</sup>	0.92 (0.84–0.96) <sup>†</sup>
血漿 IL-6	0.72 (0.61–0.81)	0.70 (0.57–0.80)	0.88 (0.79–0.93) <sup>†</sup>	0.84 (0.74–0.91)
血漿 EPO	0.63 (0.51–0.74)	0.71 (0.57–0.82)	0.65 (0.52–0.77)	0.78 (0.66–0.87)
尿中 TIMP-2	0.75 (0.63–0.84)	0.81 (0.66–0.90)	0.78 (0.65–0.88)	0.84 (0.68–0.92)
尿中 NAG	0.84 (0.73–0.90) <sup>#</sup>	0.88 (0.78–0.94) <sup>*</sup>	0.84 (0.72–0.91) <sup>†</sup>	0.90 (0.81–0.95) <sup>†</sup>

括弧内は 95%信頼区間

<sup>\*</sup>  $p < .05$  vs. IL-6 and EPO, <sup>#</sup>  $p < .05$  vs. EPO and TIMP-2, <sup>§</sup>  $p < .05$  vs. EPO, TIMP-2 and NAG, <sup>†</sup>  $p < .05$  vs. EPO

Late-onset AKI の予測に対しては、血漿 NGAL のみ統計学的に有意な結果を示した。一方、progression of AKI に予測に対しては、血漿 EPO を除く全てのバイオマーカーが統計学的有意にその発症を予測した (Table 5, 6)。

以上、これまでの結果をまとめると Table 7 のようになる。

Table 5. Late-onset AKI, progression of AKI とバイオマーカーの値

	非 AKI (n=56)	Established AKI (n=33)	Late-onset AKI (n=9)	Progression of AKI (n=16)
血漿 NGAL (ng/mL)	80 (60–142)	400 (227–622) <sup>a</sup>	196 (101–390) <sup>a</sup>	261 (124–469) <sup>a</sup>
血漿 IL-6 (pg/mL)	45.1 (22.9–226.3)	500.6 (62.5–5209.6) <sup>a</sup>	294.4 (68.9–10348.2) <sup>a</sup>	318.5 (120.1–14371.8) <sup>a</sup>
血漿 EPO (mIU/mL)	16.1 (9.9–28.5)	28.7 (11.4–109.4) <sup>a</sup>	26.9 (5.85–97.9)	33.1 (7.9–83.1)
尿中 TIMP-2 (ng/mL)	2.08 (0.72–4.59)	12.64 (2.45–35.83) <sup>a</sup>	3.94 (1.75–28.75)	8.92 (2.37–47.41) <sup>a</sup>
尿中 NAG (U/L)	5.9 (3.1–15.0)	36.1 (15.7–76.1) <sup>a</sup>	26.4 (6.0–44.4) <sup>a</sup>	33.9 (9.7–97.7) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $p < .05$  vs. 非 AKI

Table 6. Late-onset AKI, progression of AKI 予測に対する ROC 曲線下面積

	Established AKI (n=33)	Late-onset AKI (n=9)	Progression of AKI (n=16)
血漿 NGAL	0.84 (0.72–0.91) <sup>a</sup>	0.77 (0.55–0.90)	0.76 (0.60–0.87)
血漿 IL-6	0.70 (0.57–0.80)	0.72 (0.49–0.87)	0.74 (0.59–0.85)
血漿 EPO	0.65 (0.53–0.76)	0.54 (0.27–0.79)	0.58 (0.39–0.75)
尿中 TIMP-2	0.75 (0.62–0.85)	0.66 (0.44–0.83)	0.73 (0.55–0.85)
尿中 NAG	0.83 (0.72–0.90) <sup>a</sup>	0.75 (0.48–0.91)	0.77 (0.58–0.89) <sup>b</sup>

括弧内は 95%信頼区間

<sup>a</sup> $p < .05$  vs. IL-6 and EPO, <sup>b</sup> $p < .05$  vs. EPO

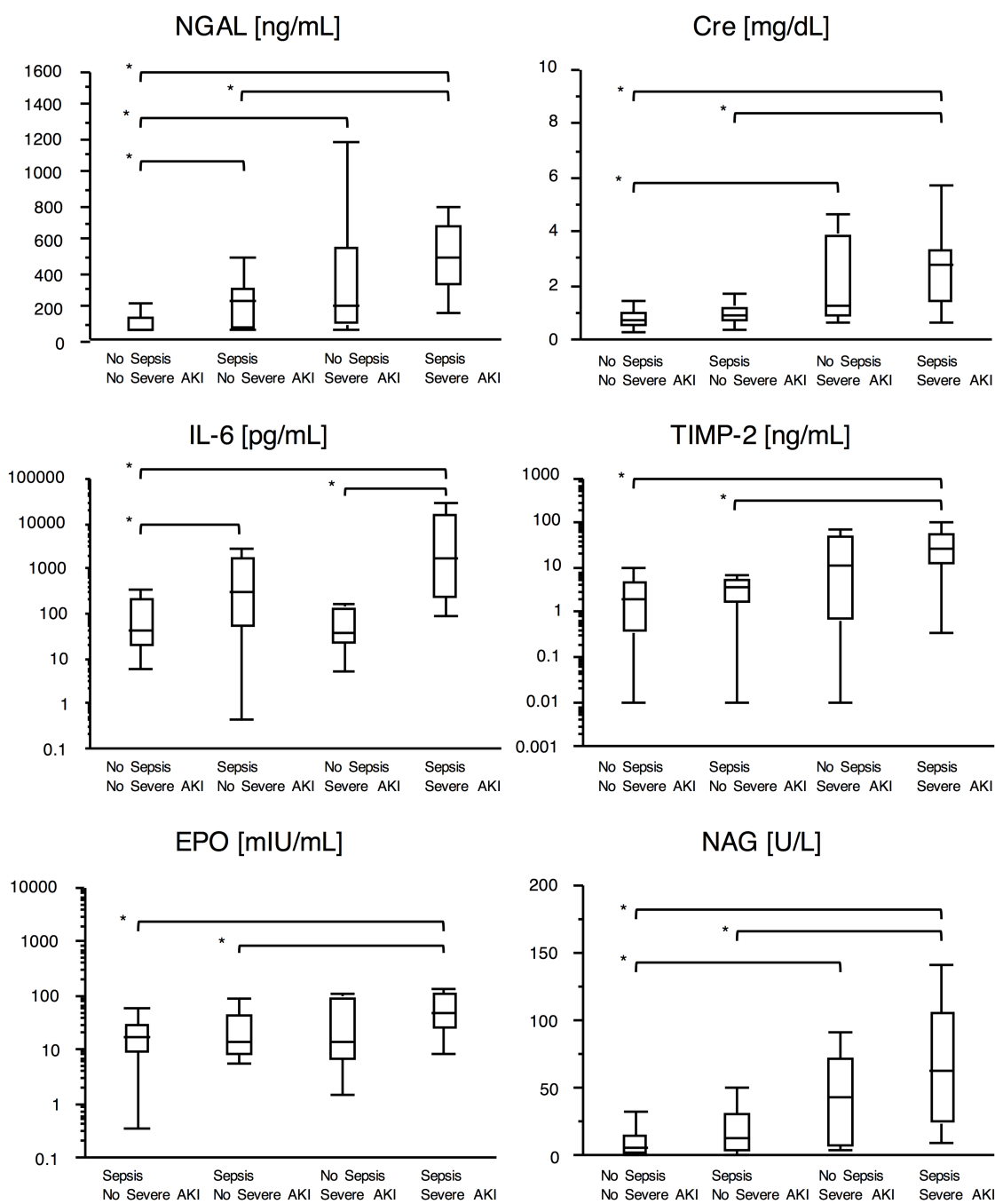
Table 7. バイオマーカーのパフォーマンス

	AKI	重症 AKI	敗血症性 AKI	敗血症性 重症 AKI	Late-onset AKI	Progression of AKI
血漿 NGAL	◎	◎	◎	◎	○	○
血漿 IL-6	○	○	◎	◎	△	○
血漿 EPO	○	○	○	○	×	×
尿中 TIMP-2	○	◎	○	◎	×	○
尿中 NAG	◎	◎	◎	◎	△	○

### バイオマーカーと敗血症性 AKI

敗血症は最も重要な AKI の併存疾患であるため、敗血症の合併の有無がバイオマーカーに与える影響を評価した。その結果を Figure 2 に示す[36]。血漿 NGAL 及び血漿 IL-6 は AKI の合併に関係なく、敗血症の合併にて高値となった。一方、尿中 TIMP-2 及び尿中 NAG に敗血症の与える影響は軽微であった。血漿 EPO は敗血症性と AKI の両者を合併している症例のみで高値であった。敗血症性 AKI と敗血症性重症 AKI の診断に対する血漿 NGAL の ROC 曲線下面積がそれぞれ 0.94 (95% confidence interval, 0.88–0.97) と 0.92 (95% CI, 0.84–0.96) と極めて高値であったことは注目に値する (Table 4)。

Figure 2. 重症 AKI, 敗血症合併の有無ごとのバイオマーカー



Nonseptic non-severe AKI ( $n = 49$ ), septic non-severe AKI ( $n = 22$ ), nonseptic severe AKI ( $n = 8$ ), and septic severe AKI ( $n = 19$ ).  $*p < .05$ .

### *ICU 入室時のバイオマーカーによる死亡率の予測*

Table 8 に生存退院症例, 院内死亡症例それぞれのバイオマーカーの値を示す。

血漿 NGAL, 尿中 TIMP-2, 尿中 NAG は, 院内死亡症例において統計学的有意に高値であった。一方, 血漿 IL-6, 血漿 EPO は院内死亡と有意な関連を認めなかった。ROC 解析を施行したところ, 7 日死亡, 院内死亡のいずれにおいても尿中 TIMP-2 の ROC 曲線下面積が最も高値であった (Table 9)。院内死亡の予測においては, 血清クレアチニンと比較して, 尿中 TIMP-2 のみが統計学的有意に ROC 曲線下面積が高かった。

Table 8. 院内死亡とバイオマーカーの値

	生存症例 (n=83)	院内死亡症例 (n=15)	p 値
血漿 NGAL (ng/mL)	111 (60–282)	269 (91–583)	.03
血漿 IL-6 (pg/mL)	78.2 (25.1–545.5)	342.7 (48.3–924.0)	.06
血漿 EPO (mIU/mL)	17.1 (9.8–36.9)	33.6 (10.4–88.7)	.21
血清 Cre (mg/dL)	0.83 (0.61–1.41)	1.04 (0.75–2.42)	.19
尿中 TIMP-2 (ng/mL)	2.8 (0.9–6.9)	11.4 (3.8–65.7)	.004
尿中 NAG (U/L)	11.9 (3.5–24.9)	33.0 (13.4–51.1)	.01

Table 9. 7 日死亡，院内死亡の予測に対するバイオマーカーの ROC 曲線下面積

	7 日死亡	院内死亡
血漿 NGAL	0.79 (0.67–0.88)	0.68 (0.53–0.80)
血漿 IL-6	0.82 (0.57–0.94)	0.66 (0.50–0.79)
血漿 EPO	0.63 (0.38–0.90)	0.60 (0.44–0.75)
血清 Cre	0.67 (0.53–0.78)	0.61 (0.45–0.74)
尿中 TIMP-2	0.83 (0.59–0.94)*	0.74 (0.60–0.85)*
尿中 NAG	0.80 (0.58–0.92)*	0.70 (0.54–0.82)

括弧内は 95%信頼区間

\*  $p < .05$  vs. 血清 Cre

## バイオマーカーの測定による臨床モデルの改善

臨床モデルのみに基づく重症 AKI の発症，院内死亡の予測が，バイオマーカーの測定を追加することで改善されるかを ROC 曲線の比較，及び continuous NRI index と IDI index を計算することで評価した。AKI の発症を予測する臨床モデルは、基礎データ (Table 2) で統計学的有意に差のあった糖尿病の合併症の有無，内科的入院 (非術後の症例)，入室時血清クレアチニンに年齢と性別を加えることにより作成した。この臨床モデルにバイオマーカー測定値の情報を加えることで、予後予測性能の改善が得られるかどうかを検証した。ROC 曲線の比較からは統計学的有意な改善はいずれにおいても認めなかった (Table 10)。しかし，continuous NRI index と IDI index より，尿中 TIMP-2，尿中 NAG の測定が，重症 AKI の発症予測が改善することが明らかになった (Table 11)。また，院内死亡の予測を改善させるのは尿中 TIMP-2 のみであることが continuous NRI index より示された。



Table 10. バイオマーカーによる臨床モデルの改善 (ROC 曲線の比較)

	重症 AKI	院内死亡
臨床モデル	0.87 (0.76–0.94)	0.72 (0.57–0.83)
+ NGAL	0.89 (0.77–0.95)	0.72 (0.58–0.83)
+ IL-6	0.88 (0.76–0.94)	0.72 (0.58–0.83)
+ EPO	0.88 (0.75–0.94)	0.72 (0.57–0.83)
+ TIMP-2	0.89 (0.76–0.95)	0.76 (0.64–0.86)
+ NAG	0.93 (0.82–0.97)	0.74 (0.61–0.84)

括弧内は 95%信頼区間

Table 11. バイオマーカーによる臨床モデルの改善 (NRI, IDI)

	重症 AKI		院内死亡	
	Continuous NRI	IDI	Continuous NRI	IDI
臨床モデル				
+ NGAL	25 (-19 to 69)	0.03 (-0.00 to 0.07)	24 (-31 to 79)	0.00 (-0.01 to 0.01)
+ IL-6	-8 (-51 to 35)	0.00 (-0.00 to 0.01)	10 (-44 to 64)	0.01 (-0.02 to 0.04)
+ EPO	34 (-10 to 78)	0.01 (-0.01 to 0.03)	-13 (-68 to 42)	0.00 (-0.00 to 0.01)
+ TIMP-2	41 (1 to 82)*	0.04 (0.00 to 0.08)*	64 (17 to 109)*	0.03 (-0.01 to 0.06)
+ NAG	79 (38 to 119)*	0.13 (0.05 to 0.21)*	24 (-30 to 78)	0.01 (-0.01 to 0.03)

括弧内は 95%信頼区間

\*  $p < .05$  vs. 臨床モデル

### 敗血症合併の有無によるサブグループ解析

さらに、バイオマーカーにより臨床モデルが改善されるかについて、敗血症の合併の有無でコホートを 2 群に分けて検討した。臨床モデルは、先述のように、年齢、性別、糖尿病の合併症の有無、内科的入院（非術後の症例）、入室時血清クレアチニンより作成した。ROC 解析では臨床モデルのみと比較してバイオマーカーの測定による改善は明らかとならなかった（Table 12）。しかしながら、continuous NRI index と IDI index を計算したところ、敗血症による影響の少ないバイオマーカーである尿中 TIMP-2、尿中 NAG、血漿 EPO は、敗血症合併群における重症 AKI の診断を有意に改善させることが明らかになった（Table 13）。

Table 12. 敗血症合併の有無によるサブグループ解析での ROC 曲線下面積

	敗血症合併群 ( <i>n</i> =41) の 重症 AKI ( <i>n</i> =19)	敗血症非合併群 ( <i>n</i> =57) の 重症 AKI ( <i>n</i> =8)
臨床モデル	0.91 (0.76 to 0.97)	0.85 (0.65 to 0.95)
+ NGAL	0.91 (0.77 to 0.97)	0.83 (0.60 to 0.94)
+ IL-6	0.91 (0.75 to 0.97)	0.86 (0.69 to 0.95)
+ EPO	0.96 (0.86 to 0.99)	0.86 (0.66 to 0.95)
+ TIMP-2	0.96 (0.86 to 0.99)	0.86 (0.70 to 0.95)
+ NAG	0.99 (0.92 to 1.00)	0.88 (0.68 to 0.96)

括弧内は 95%信頼区間

Table 13. 敗血症合併の有無によるサブグループ解析での NRI, IDI

	敗血症合併群 (n=41) の 重症 AKI (n=19)		敗血症非合併群 (n=57) の 重症 AKI (n=8)	
	Continuous NRI	IDI	Continuous NRI	IDI
臨床モデル				
+ NGAL	-9 (-68 to 51)	0.00 (-0.02 to 0.03)	56 (-17 to 128)	0.07 (-0.00 to 0.15)
+ IL-6	23 (-37 to 84)	0.01 (-0.02 to 0.03)	93 (40 to 147) <sup>a</sup>	0.05 (-0.07 to 0.16)
+ EPO	75 (18 to 131) <sup>a</sup>	0.12 (0.02 to 0.21) <sup>a</sup>	10 (-64 to 85)	0.00 (-0.03 to 0.04)
+ TIMP-2	103 (51 to 156) <sup>a</sup>	0.11 (0.00 to 0.21) <sup>a</sup>	-10 (-85 to 64)	0.00 (-0.04 to 0.05)
+ NAG	179 (151 to 207) <sup>a</sup>	0.30 (0.15 to 0.46) <sup>a</sup>	14 (-60 to 89)	0.06 (-0.04 to 0.16)

括弧内は 95%信頼区間

<sup>a</sup>  $p < .05$  vs. 臨床モデル

以上、ICU 入室コホートにおいて得られた知見を小括する。

1. 新規 AKI バイオマーカーである尿中 TIMP-2 は重症 AKI を血漿 NGAL, 尿中 NAG と同様に診断する。
2. ICU 入室時に尿中 TIMP-2 を測定することで院内死亡の予測をより正確に行うことができる。
3. 敗血症の合併により, 血漿 NGAL, 血漿 IL-6 は高値になる。一方, 敗血症が尿中 TIMP-2, 尿中 NAG に与える影響は少ない。
4. 敗血症による影響の少ないバイオマーカーである尿中 TIMP-2, 尿中 NAG, 血漿 EPO を測定することで, 敗血症合併群における AKI の診断をより正確に行うことができる。

### 持続的腎代替療法開始コホートの基礎データとアウトカム

持続的腎代替療法開始コホートの基礎データ及びアウトカムを Table 14 に記載する。院内死亡は 44 症例（44.9%）で発生した。生存退院症例のうち、8 症例（14.8%）が透析依存であり（腎死）、6 症例（13.0%）がベースラインと比較し 50%以上の推算糸球体濾過量の低下を認めた。院内死亡及び腎死からなる複合アウトカム、さらにそれに 50%以上の推算糸球体濾過量の低下を加えた複合アウトカム（major adverse kidney events, MAKE）についても検討することとした。生存退院症例と比較し、院内死亡症例はより高齢であった。

Table 14. 持続的腎代替療法開始コホートの基礎臨床データとアウトカム

	全症例 (n=98)	生存症例 (n=54)	院内死亡症例 (n=44)	p 値
年齢 (歳)	70 (55 – 78)	65 (53 – 73)	75 (64 – 78)	.01
男性, n (%)	76 (78%)	43 (80%)	33 (75%)	.63
糖尿病, n (%)	37 (38%)	22 (41%)	15 (34%)	.54
高血圧, n (%)	60 (61%)	33 (61%)	27 (61%)	1.00
入室経路, n (%)				.03
待機手術	19 (19%)	15 (28%)	4 (9.0%)	
緊急手術	7 (7.1%)	2 (3.7%)	5 (11%)	
内科	72 (73%)	37 (69%)	35 (80%)	
敗血症, n (%)	37 (38%)	16 (30%)	21 (48%)	.09
入室時主要疾患, n (%)				
冠動脈疾患	16 (36%)	9 (17%)	7 (16%)	1.00
腸管壊死	5 (5.1%)	1 (1.9%)	4 (9.1%)	.17
肝硬変	3 (3.1%)	1 (1.9%)	2 (4.5%)	.59
脳卒中	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1.00
外傷	1 (1.0%)	1 (1.9%)	0 (0%)	1.00
SIRS 陽性項目数	2 (1–3)	2 (1–3)	2 (2–4)	.02
ベースライン血清 Cre (mg/dL)	0.96 (0.76–1.66)	1.08 (0.78–2.01)	0.85 (0.68–1.44)	.04
ベースライン eGFR (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	59 (35–75)	56 (23–75)	67 (37–75)	.12
ICU 入室時血清 Cre (mg/dl)	2.11 (1.27–3.34)	2.28 (1.31–4.97)	2.01 (1.20–2.95)	.18
CRRT 開始時血清 Cre (mg/dl)	3.01 (2.12–3.95)	3.13 (2.14–5.04)	2.80 (1.99–3.60)	.12
乳酸 (mmol/L)	1.8 (1.1–5.2)	1.3 (0.8–2.1)	4.3 (1.7–9.7)	< .001
APACHE II スコア	26 (19–32)	22 (18–27)	31 (25–44)	< .001
ICU 入室期間 (日)	9 (4–18)	9 (5–16)	10 (3–26)	.71
腎死, n (%)	8 (15%)	8 (15%)		
eGFR の 50%以上の減少, n (%)	6 (13%)	6 (13%)		



### 持続的腎代替療法開始時におけるバイオマーカーと院内死亡

持続的腎代替療法開始時に測定した血漿 NGAL, 尿中 TIMP-2, 尿中 NAG の全てが統計学的有意に ICU 入室コホートでの値より高値であった (Table 15)。

しかし, 持続的腎代替療法開始時におけるバイオマーカーの値と院内死亡の間に有意な関連は認めなかった (Table 16)。尿中 TIMP-2 < 3 ng/ml の症例に院内死亡の症例は 2 例しか存在しなかった。尿中 TIMP-2 のカットオフ値を 3 ng/ml と設定し, 28 日死亡, 90 日死亡の有無に対して Fisher の正確検定を施行すると有意な差が認められた ( $p=0.032$ ,  $p=0.045$ )。したがって, 統計学的検討においては尿中 TIMP-2 < 3 ng/ml であることは 28 日死亡でないこと, 90 日死亡でないことと関連すると言える。

Table 15. 各コホートにおけるバイオマーカー

	ICU 入室コホート (n=98)	CRRT 開始コホート (n=98)	<i>p</i> 値
血漿 NGAL (ng/mL)	134 (60–292)	460 (204–770)	< .0001
尿中 TIMP-2 (ng/mL)	3.5 (1.0–11.3)	13.2 (5.7–30.4)	< .0001
尿中 NAG (U/L)	13.2 (4.1–31.3)	28.7 (14.7–61.1)	< .0001

Table 16. 院内死亡と持続的腎代替療法開始時におけるバイオマーカー

	生存症例 (n=54)	院内死亡症例 (n=44)	<i>p</i> 値
血漿 NGAL (ng/mL)	373 (204–590)	612 (215–540)	.10
尿中 TIMP-2 (ng/mL)	11.9 (5.2–27.6)	13.9 (8.2–37.0)	.27
尿中 NAG (U/L)	25.8 (14.1–80.0)	32.8 (14.8–55.1)	.71

### 持続的腎代替療法開始時におけるバイオマーカーと腎予後

持続的腎代替療法開始時のバイオマーカーと腎予後の関連について、先述した院内死亡及び腎死からなる複合アウトカム，MAKE を用いて検討した。ROC 解析を施行したところ，血漿 NGAL のみが統計学的有意に院内死亡及び腎死，MAKE いずれをも予測した (Table 17)

Table 17. 腎予後に対するバイオマーカーの ROC 曲線下面積

	院内死亡	院内死亡 + 腎死	MAKE
血漿 NGAL	0.60 (0.48–0.71)	0.65 (0.54–0.76)	0.72 (0.60–0.81)*
尿中 TIMP-2	0.57 (0.45–0.68)	0.57 (0.45–0.69)	0.58 (0.46–0.70)
尿中 NAG	0.52 (0.40–0.64)	0.51 (0.39–0.62)	0.52 (0.40–0.64)

括弧内は 95%信頼区間

\*  $p < .05$  vs. TIMP-2 and NAG

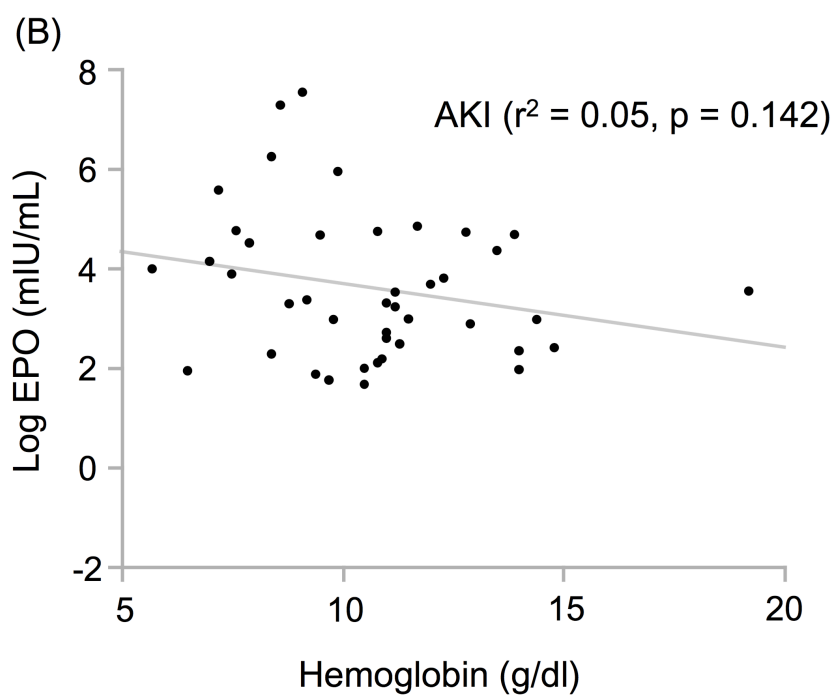
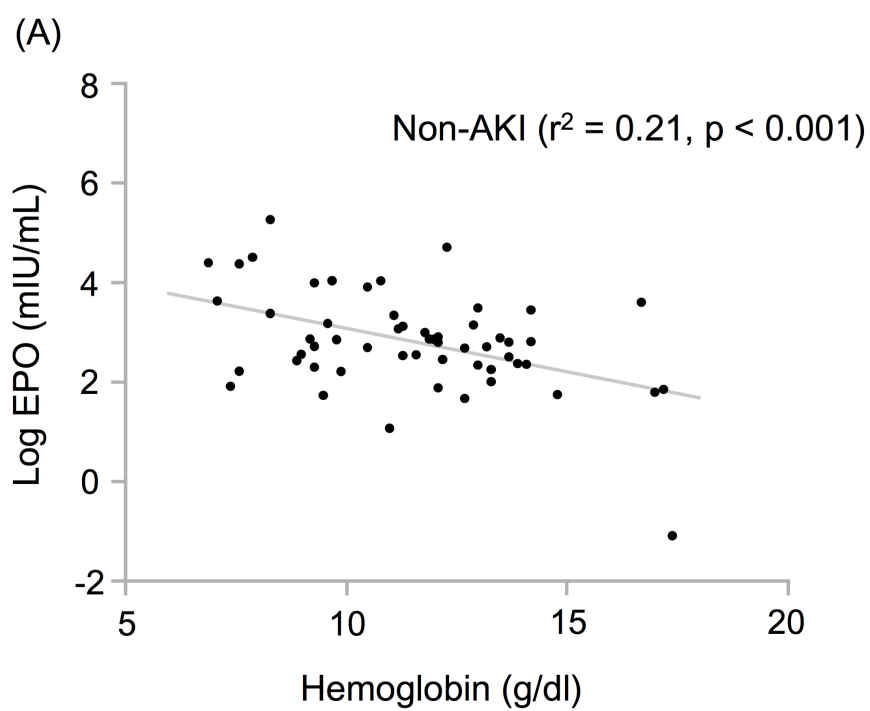
## ICU 入室患者におけるエリスロポエチン

ICU 入室コホート全体におけるエリスロポエチンはヘモグロビン値と統計学的有意な負の相関を認めた ( $r^2 = 0.13, p < .001$ )。しかし, AKI 群と非 AKI 群のヘモグロビン値に統計学的有意差はないものの (Table 2), 先述のように, 非 AKI 群と比較し, AKI 群の方が統計学的有意にエリスロポエチンは高値であった (Table 18)。従って, AKI の有無によるサブグループ解析を施行した。非 AKI 群では, エリスロポエチンとヘモグロビン値に統計学的有意な負の相関を認めたが ( $r^2 = 0.21, p < .001$ ), AKI 群では負の相関を認めなかった (Figure 3) [37]。

Table 18. AKI 群でのエリスロポエチン, IGFBP1 の上昇

	非 AKI ( <i>n</i> =56)	AKI ( <i>n</i> =42)	<i>p</i> 値
EPO (mIU/mL)	16.1 (9.9–28.5)	27.8 (10.8–106.0)	.012
IGFBP-1 (pg/mL)	19208 (8820–50780)	63199 (25289–147489)	< .001
NGAL (ng/mL)	80 (60–142)	322 (157–540)	< .001
IL-6 (pg/mL)	45.1 (22.9–226.3)	322.4 (70.3–5150.6)	< .001
NAG (U/L)	5.9 (3.1–15.0)	32.2 (14.1–71.4)	< .001

Figure 3. AKI の有無によるエリスロポエチンとヘモグロビンの相関



単変量解析を施行したところ、Table 19 に記載のようにエリスロポエチンは、非 AKI 群では、ヘモグロビン、入室後 24 時間以内の最も partial pressure of oxygen ( $\text{PaO}_2$ ) / fraction of inspiratory oxygen ( $\text{FiO}_2$ ) 比が低い時の  $\text{PaO}_2$ 、血漿 NGAL と有意に関連しており、AKI 群では、血漿 IGFBP1、尿中 NAG、血清フェリチン、内科的入院（非術後の症例）と有意に関連していた。低酸素によりエリスロポエチンは産生が刺激されるが、AKI 群ではヘモグロビン、 $\text{PaO}_2$  と有意な関連を認めなかったと解釈できる。炎症性サイトカインである血漿 IL-6 はいずれの群においてもエリスロポエチンと有意な関連を認めなかった。

Table 19. エリスロポエチンに対する単変量解析

	非 AKI		AKI	
	推定値	<i>p</i> 値	推定値	<i>p</i> 値
年齢	0.0114	.087		
糖尿病			0.579	.054
内科的入院			0.575	.048
ヘモグロビン	-0.174	< .001		
フェリチン			0.264	.039
PaO <sub>2</sub>	-0.00509	.033		
APACHE II スコア	0.0281	.093		
IGFBP1	0.00000745	.071	0.0000144	< .001
NGAL	0.499	.031		
NAG			0.380	.037

*p* < .10 の変量を記載

単変量にて  $p < .10$  を示した因子を用いたステップワイズ法多変量解析を施行した。Table 20 に記載のように、非 AKI 群では、ヘモグロビン、血漿 NGAL と有意に関連しており、AKI 群では、血漿 IGFBP1、糖尿病の合併と有意に関連していた。多変量解析においても AKI 群ではエリスロポエチンとヘモグロビンに有意な関連は認めなかった。

Table 20. エリスロポエチンに対する多変量解析

	非 AKI		AKI	
	推定値	<i>p</i> 値	推定値	<i>p</i> 値
年齢		.726		
糖尿病			0.533	.002
内科的入院				.199
ヘモグロビン	-0.164	< .001		
フェリチン				.503
PaO <sub>2</sub>		.167		
APACHE II スコア		.201		
IGFBP1		.071	0.0000140	< .001
NGAL	0.418	.047		
NAG				.774



## 「考察」

### 1. AKI バイオマーカーとしての尿中 TIMP-2

AKI の統一した定義が提唱されてから 10 年以上が経過し、疫学研究には多くの進展がみられたが、AKI の治療は依然として腎代替療法を中心とした支持療法であり、AKI を合併した際の死亡率は非常に高い。急性心筋梗塞は、1960 年代は LDH の上昇により診断していたが、CK, CK-MB を経て、現在はトロポニンにより早期診断が可能となり、それとともに死亡率は低下している。一方、急性腎不全・AKI は血清クレアチニンによる診断が続いており、早期診断・早期介入を可能とするバイオマーカーの開発が課題である。これまでに AKI のバイオマーカーとして NGAL, L-FABP, KIM-1, IL-18, シスタチン C などが報告されており、心臓外科術後といった均一性の高い状況では非常に優れたパフォーマンスを発揮するものの、混合 ICU のように均一性が低い状況ではパフォーマンスの低下が指摘されている[38]。このような状況の中、300 以上の AKI バイオマーカーの候補物質を混合 ICU で評価した結果、新規バイオマーカーとして尿中 TIMP-2 が報告された[16]。現時点では、尿中 TIMP-2 は最初に報告した研究グループ以外では十分に検証されておらず、またその特徴も明らかになっていない。本研究は、尿中 TIMP-2 を我々の混合 ICU コホートで評価すること

で、パフォーマンスの一般性を検証すること、また尿中 TIMP-2 の特徴を明らかにすることを目的として行った。

本研究では、まず ICU 入室時の尿中 TIMP-2 が ROC 曲線下面積 0.80 以上という優れたパフォーマンスで、血漿 NGAL、尿中 NAG と同様に重症 AKI を診断することを示した。尿中 TIMP-2 は、敗血症、ショック、大手術、外傷などの様々な背景疾患を持つ ICU 患者を対象にした先行研究で、尿中 IGFBP7 とともに新規 AKI のバイオマーカーとして報告されている[16]。本研究の対象にした ICU 入室コホートも、混合 ICU の入室患者であり、症例は多様な疾患を有し、均一性は低い。これらの症例は、AKI 以外の臓器不全も有しており、そのことを反映して ICU 入室時における尿中 TIMP-2 の測定は、重症 AKI のクレアチニンと比較して統計学的有意に院内死亡を予測しえたと考えられる。先行研究では、尿中 TIMP-2 は重症 AKI の発症予測において最も高い ROC 曲線下面積を持つと報告されているが、本研究では有意差はついてはいないものの、血漿 NGAL、尿中 NAG の方がより高い ROC 曲線下面積を示した。本研究の対象としたコホートはバイオマーカー測定時にすでに血清クレアチニンが上昇している症例が多く含まれており、そのことが結果に影響を与えている可能性があり、さらなる検証が必要である。しかしながら、本研究では院内死亡の予測においても尿

中 TIMP-2 を他のバイオマーカーと比較し、唯一尿中 TIMP-2 のみが臨床モデルへの追加により予測を改善させることを示すことで、尿中 TIMP-2 の有用性を明らかにした。このことは先行研究では検討されておらず、本研究の新規性の一つである。また、混合 ICU の異なるコホートにおいて尿中 TIMP-2 の優れたパフォーマンスが確認されたことは、その一般性を保証し、尿中 TIMP-2 の臨床への利用の根拠となる。

TIMP-2 は、腎尿細管上皮や糸球体を含む様々な細胞に恒常的に発現している物質である。当初はマトリックスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinase, MMP) の阻害作用を有す物質として発見されたが、MMP とは独立した経路で G1 での細胞周期停止をもたらす内皮細胞の増殖を阻害することで血管新生を抑制することも判明している[39]。ただその作用は多様であり、細胞増殖を促進する作用をも有し、どのように作用するかは細胞の環境次第であると考えられている[40]。心臓においては、糖尿病による心筋の繊維化を抑制すると報告された[41]。TIMP-2 と同様に IGFBP7 も細胞周期停止に関連したバイオマーカーであり、動物モデルに限らず臨床の AKI においても細胞周期が重要な役割を果たしていることが示唆される。

先行研究において著者らは、尿中 TIMP-2 が特に敗血症合併群において重症

AKI の予測に優れていると報告している[16]。敗血症は最も重要な AKI の併存疾患である。本研究では、血漿 NGAL が ROC 曲線下面積 0.90 以上であり、過去に報告されているように[42-44]、敗血症性 AKI を正確に診断可能であることを示した。また、血漿 IL-6 は AKI のみならず敗血症によっても高値となり、血漿 EPO は敗血症性 AKI のみで高値となりうることを明らかにした。一方、敗血症は尿中 TIMP-2、尿中 NAG に与える影響は少なかった。敗血症群における重症 AKI の診断を臨床モデルのみによる診断と比較して改善させるバイオマーカーは、敗血症が与える影響の少ない血漿 EPO、尿中 TIMP-2、尿中 NAG であり、この性質が関与していると考えられる。AKI は多様な病態を背景として発症する症候群であるため、いくつかのバイオマーカーを測定することで、鑑別疾患、背景疾患の診断を確認すべきと推奨されている[45]。本研究で我々は測定した 5 つのバイオマーカーと敗血症の関連を明らかにした。敗血症以外の病態との関連も検討することで、バイオマーカーの測定が AKI の背景疾患の鑑別において大きな役割を担うようになる可能性がある。

本研究で、ICU 入室時における尿中 TIMP-2 の測定は、クレアチニンと比較して統計学的有意に院内死亡を予測すること、また臨床モデルに追加することで院内死亡の予測を有意に改善することを示した。AKI バイオマーカーが、AKI

のみならず死亡を予測するという性質が近年注目されている。Haase らは、n=2,322 のメタアナリシスにより、主に心腎症候群の ICU 患者において、血清クレアチニンの上昇を伴わない NGAL の上昇ですら、院内死亡のリスクであることを報告した[46]。この事実は、血清クレアチニンが AKI 診断のゴールドスタンダードとしては不十分である可能性を示唆するものである[47]。

本研究で対象としたコホートの死亡症例の死因を Supplementary Table 2 に示す。

Supplementary Table 2. 各コホートにおける死因

	ICU入室コホート (n=15)	CRRT開始コホート (n=44)
敗血症	11 (73%)	16 (36%)
心不全	1 (6.7%)	14 (32%)
腎不全	0 (0%)	3 (6.8%)
その他	3 (20%)	11 (25%)

いずれのコホートも敗血症、心不全が主要な死因となっている。敗血症は AKI の主要な原疾患として知られているが、AKI の合併症としても発症することが報告されている[48]。その機序として、AKI による免疫システムの変化が考えられている。一次的な腎への傷害により発症する AKI の動物モデルである腎虚血再灌流モデルにおいて、肺におけるマクロファージの貪食機能が低下すること [49]、脾臓におけるリンパ球の発現に影響を与え、それは6週以上にわたり持続していることが明らかとなった[50]。また、心不全も AKI の原疾患の一つであるが、AKI により心機能も低下することが腎虚血再灌流モデルを用いた研究により明らかになっている[51, 52]。AKI の脳や肝臓への影響も報告されており、遠隔臓器が AKI 発症の原因となるだけでなく、AKI 自体も遠隔臓器へ影響を与えているという AKI と遠隔臓器とのクロストークが近年注目されている[53]。

本研究において、尿中 TIMP-2 は血清クレアチニンより院内死亡の予測において優れていることが示された。尿中 TIMP-2 の方がクレアチニンと比較し、より正確に AKI における腎臓の障害を表現しており、その結果 AKI に由来した他臓器の合併症のリスク、総死亡を予測している可能性が示唆される。

また、血清クレアチニンがスタンダードとして不十分である場合、バイオマーカーの本来のパフォーマンスがどれほど優れていても、クレアチニン基準で

診断した AKI に対するみかけ上のパフォーマンスは悪くなることも問題と考えられている。このことが、重症 AKI の予測においては尿中 TIMP-2 の ROC 曲線下面積が血漿 NGAL, 尿中 NAG より有意ではないものの低値となった理由の一つである可能性がある。血清クレアチニンのような腎機能の指標となるバイオマーカーと血漿 NGAL のような腎障害の指標となるバイオマーカーの両者を AKI の診断に用いることが提唱されている[45]。

TIMP-2 と IGFBP7 の積の有用性は、他の成人 ICU コホート[54, 55], 心臓術後コホートでも検証されており[56, 57], これらの研究を受けて 2014 年 9 月 5 日にアメリカ食品医薬品局(U.S. Food and Drug Administration, FDA)は AKI 発症のリスクを評価する初の臨床検査として、TIMP-2 と IGFBP 7 の積からなる検査キット (NephroCheck®) を承認した。この検査の利用により、従来よりも早期の AKI への介入が可能になると想定されるため、新たな臨床試験及びその成功が期待される。

## 2. 晩期 AKI におけるバイオマーカーの有用性

次に、AKI が確立した晩期に相当する持続的腎代替療法開始コホートにおい

て、血漿 NGAL，尿中 TIMP-2，尿中 NAG を測定し，持続的腎代替療法開始時にこれらのバイオマーカーが高値であることを示した。バイオマーカー毎に傷害発生からの時間経過による推移が異なることが報告されているが[15]，これら3つのバイオマーカーはいずれも晩期においても高値であると考えられる。ただ，血漿 NGAL は腎予後を予測するものの院内死亡との関連は認めず，尿中 TIMP-2，尿中 NAG は院内死亡，腎予後いずれとも関連を認めなかった。傷害の初期のストレスに反応して産生が増加すると考えられている TIMP-2 は，TIMP-2 が低値であることは統計学的有意に 28 日死亡率，90 日死亡率と関連したことからも，傷害早期に測定することが効果的なバイオマーカーであり，ある一定の値以上の高値では直線性が失われ，パフォーマンスが低下すると推測される。一方，血漿 NGAL は持続的腎代替療法開始時に測定しても腎予後を予測することが可能であり，比較的長期間にわたってパフォーマンスを発揮するバイオマーカーであると考えられる。

### 3. バイオマーカーの治療への応用

尿中 TIMP-2 は，傷害早期の重症 AKI の発症の予測，院内死亡の予測に優れ



ており，特に敗血症合併例において有用な情報をもたらすことから，ICU 入室時に測定することで重症度の判定や治療の最適化目的の利用，敗血症症例で測定することで ICU 入室の判断目的の利用が適切であると推測される。またクレアチニンよりも死亡との関連が強いことから，クレアチニンで選択される患者よりも適切な患者を治療対象としてより早期に選択できる可能性がある。現時点では臨床での治療介入を目的とした利用には至っていないものの，上述のように既に FDA に承認されており，新規 AKI 治療の発見を目的とした臨床研究への利用が期待される。一方，傷害晩期に高値となつてからは臨床的意義が低下しており，治療経過の判断には不適切であると推測される。

血漿 NGAL は，AKI のみならず敗血症でも高値となるため，敗血症の合併の判断が困難な症例で測定することで，敗血症及び AKI の両方の診断に有用であると考えられる。また長期にわたって腎予後と関連するため治療経過のフォローにも利用できる可能性がある。

#### **4. AKI における血中エリスロポエチン濃度と IGFBP1**

最後に，ICU において AKI 患者のエリスロポエチンが高値であること，また

エリスロポエチンは非 AKI 群ではヘモグロビンと有意に相関している一方, AKI 群ではヘモグロビンとの相関は認めず, IGFBP1 と相関していることを示した。先行研究においても, ICU では AKI を合併していない非敗血症の患者においてのみ, エリスロポエチンはヘマトクリット値と相関することが報告されており [58], 本研究の結果はこれと一致し, AKI の患者においてエリスロポエチンと相関するものとして新たに IGFBP1 を同定した。IGFBP1 は, 主に肝臓により産生される蛋白であり, IGF-1,-2 と高親和性を持つ [59]。IGFBP ファミリーの中で IGFBP3 が最も血漿中に豊富であるが, IGFBP3 の濃度は短期間では変化しないため, 急性期の遊離 IGF-1 の濃度を調整しているのは IGFBP1 である。IGFBP1 はインスリンによりその産生が抑制され, HIF の活性化, コルチゾール, カテコラミン, 活性酸素, 炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$ , IL-6 などにより産生が刺激される [25, 26]。IGFBP1 の濃度が上昇すると, 遊離 IGF-1 濃度は減少し, IGF-1 による血糖低下作用は抑制される。また, IGFBP1 は IGF を介さず直接細胞表面のインテグリンに結合することにより, 細胞の遊走を促進したり, インスリン感受性を調節したりする作用も有する。IGFBP1 低値は心血管病のリスクと関連しており, 過剰発現させたマウスでは一酸化窒素の産生が亢進しており, 血管保護的な作用を有すことも明らかになっている [60]。

AKI 患者におけるエリスロポエチンは、貧血や低酸素分圧といった全身の低酸素ではなく、AKI 時におけるカテコラミンやコルチゾールの産生を刺激するような全身のストレスや臓器局所における低酸素を反映していると考えられる。

また、多変量解析により糖尿病の合併により、エリスロポエチンの値が高値になることも明らかになった。糖尿病性腎症では、他の原疾患の CKD と比較し、腎性貧血が早期に発症することが知られている[61]。この原因は、エリスロポエチン濃度の相対的低値[62]、エリスロポエチンの機能的欠乏[63]、エリスロポエチン抵抗性[64]が考えられている。AKI では、糖尿病の合併によりエリスロポエチンが高値になっており、エリスロポエチン抵抗性の存在が疑われる。糖尿病自体によるエリスロポエチン抵抗性の可能性や、糖尿病の合併により重症患者において全身の炎症が増幅することが報告されており[65]、炎症はエリスロポエチン抵抗性の原因となるため、糖尿病により増幅された炎症によるエリスロポエチン抵抗性の可能性が考えられる。また炎症以外の AKI のストレスが糖尿病により増幅された可能性もある。炎症性サイトカインである IL-6 とエリスロポエチンには相関を認めなかった。

動物モデルにおいては外因性投与が AKI を予防・改善したエリスロポエチンであるが、臨床研究では改善を示せていない[23]。本研究において AKI の患者

は、非 AKI の患者と比較して、エリスロポエチンは高値であることが示された。

但し、腎保護作用を発揮するに十分な濃度上昇が得られているのかどうかは不明であり、IGFBP1 と比較してエリスロポエチンが低値である症例や糖尿病などによるエリスロポエチン抵抗性がある症例では、エリスロポエチンが相対的に欠乏している可能性がある。AKI において外因性エリスロポエチン投与に反応する患者群（レスポンドー）の同定に IGFBP1 と糖尿病合併が重要な手がかりとなる可能性が考えられる。またエリスロポエチン抵抗性を評価する方法についての検討も望ましい。今後、改めて AKI に対するエリスロポエチン投与の臨床研究を施行する場合には、これらバイオマーカーの測定も同時に行って、レスポンドーの同定に有用であるかどうかの検証を行う必要があるだろう。

## 5. 本研究の限界

本研究にはいくつかの限界が存在する。第一に、単施設で施行された症例数が十分でない研究であるため、多施設での十分な症例数での研究による検証が必要である。第二に、ICU 入室コホートの AKI の症例のうち、79%は ICU 入室時に AKI と診断された。バイオマーカーの利点の一つは、血清クレアチニンよ

り早期の上昇であると考えられており、より早期の患者層にて検討した場合には異なる結果が得られる可能性がある。第三に、本研究では AKI と敗血症の関連について検討したが、その因果関係については検討していない。敗血症は AKI の主要な原因として知られているが[66]、AKI の合併症としても発症することが報告されている[48]。因果関係についても検討することで新たな知見が得られる可能性がある。第四に、IGFBP1 は主に肝臓により産生され、薬剤性肝障害やアルコール性肝疾患がその値に影響することが報告されている[67, 68]。軽度から中等度の肝障害は ICU では頻繁に起こる合併症であり、結果に影響を与えている可能性がある。最後に、本研究ではエリスロポエチン濃度と同時に測定したヘモグロビンの値について検討したが、輸血や出血性合併症の影響を考慮していない。本研究での ICU 入室コホートでは、19 症例（19%）が出血性合併症を有していた。慢性的な輸血は CKD 患者のエリスロポエチン濃度に影響を与えないと報告されているが[69]、急性期における影響は定かではない。

## 「結論」

新規 AKI バイオマーカーである尿中 TIMP-2 は血漿 NGAL, 尿中 NAG と同程度に重症 AKI の発症を予測し, 院内死亡の予測においては最も優れていた。

敗血症により血漿 NGAL, 血漿 IL-6 は高値となる一方, 敗血症が尿中 TIMP-2, 尿中 NAG に与える影響は少ない。敗血症と判明している症例においては尿中 TIMP-2, 尿中 NAG の測定がより有用である可能性がある。

尿中 TIMP-2 は障害早期に有用なバイオマーカーである一方, 血漿 NGAL は障害が確立してもなお腎予後を予測する長期にわたって有用なバイオマーカーであることが示唆された。

AKI 症例において内因性に産生が亢進している血漿エリスロポエチンは, 貧血や全身の低酸素ではなく, 血漿 IGFBP1 と関連しており, 全身のストレスや臓器局所の低酸素を反映していると考えられる。

## 「引用文献」

1. Beall D, Bywaters EG, Belsey RH, et al: **Crush Injury with Renal Failure.** *Br Med J* **1**: 432-434, **1941**.
2. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group: **KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury.** *Kidney Int Suppl* **2**: 1-138, **2012**.
3. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, et al: **Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group.** *Crit Care* **8**: R204-212, **2004**.
4. Lassnigg A, Schmidlin D, Mouhieddine M, et al: **Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study.** *J Am Soc Nephrol* **15**: 1597-1605, **2004**.
5. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, et al: **Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury.** *Crit Care* **11**: R31, **2007**.

6. Susantitaphong P, Cruz DN, Cerda J, et al: **World incidence of AKI: a meta-analysis.** *Clin J Am Soc Nephrol* **8**: 1482-1493, **2013**.
7. Hoste EA, Bagshaw SM, Bellomo R, et al: **Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study.** *Intensive Care Med* **41**: 1411-1423, **2015**.
8. Srisawat N, Hoste EE, Kellum JA: **Modern classification of acute kidney injury.** *Blood Purif* **29**: 300-307, **2010**.
9. Coca SG, Singanamala S, Parikh CR: **Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis.** *Kidney Int* **81**: 442-448, **2012**.
10. Chawla LS, Amdur RL, Shaw AD, et al: **Association between AKI and long-term renal and cardiovascular outcomes in United States veterans.** *Clin J Am Soc Nephrol* **9**: 448-456, **2014**.
11. Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, et al: **Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review.** *Kidney Int* **73**: 1008-1016, **2008**.
12. Parikh CR, Coca SG, Thiessen-Philbrook H, et al: **Postoperative biomarkers**



**predict acute kidney injury and poor outcomes after adult cardiac surgery.**

*J Am Soc Nephrol* **22**: 1748-1757, **2011**.

13. Susantitaphong P, Siribamrungwong M, Doi K, et al: **Performance of urinary liver-type fatty acid-binding protein in acute kidney injury: a meta-analysis.**

*Am J Kidney Dis* **61**: 430-439, **2013**.

14. Zhang Z, Lu B, Sheng X, et al: **Cystatin C in prediction of acute kidney injury: a systemic review and meta-analysis.** *Am J Kidney Dis* **58**: 356-365, **2011**.

15. Endre ZH, Pickering JW, Walker RJ, et al: **Improved performance of urinary biomarkers of acute kidney injury in the critically ill by stratification for injury duration and baseline renal function.** *Kidney Int* **79**: 1119-1130, **2011**.

16. Kashani K, Al-Khafaji A, Ardiles T, et al: **Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury.** *Crit Care* **17**: R25, **2013**.

17. Price PM, Safirstein RL, Megyesi J: **The cell cycle and acute kidney injury.** *Kidney Int* **76**: 604-613, **2009**.

18. Lameire NH, Bagga A, Cruz D, et al: **Acute kidney injury: an increasing**

- global concern. *Lancet* 382: 170-179, 2013.**
19. Asada N, Takase M, Nakamura J, et al: **Dysfunction of fibroblasts of extrarenal origin underlies renal fibrosis and renal anemia in mice. *J Clin Invest* 121: 3981-3990, 2011.**
  20. Sharples EJ, Patel N, Brown P, et al: **Erythropoietin protects the kidney against the injury and dysfunction caused by ischemia-reperfusion. *J Am Soc Nephrol* 15: 2115-2124, 2004.**
  21. Johnson DW, Pat B, Vesey DA, et al: **Delayed administration of darbepoetin or erythropoietin protects against ischemic acute renal injury and failure. *Kidney Int* 69: 1806-1813, 2006.**
  22. Coldewey SM, Khan AI, Kapoor A, et al: **Erythropoietin attenuates acute kidney dysfunction in murine experimental sepsis by activation of the beta-common receptor. *Kidney Int* 84: 482-490, 2013.**
  23. Endre ZH, Walker RJ, Pickering JW, et al: **Early intervention with erythropoietin does not affect the outcome of acute kidney injury (the EARLYARF trial). *Kidney Int* 77: 1020-1030, 2010.**
  24. Mesotten D, Delhanty PJ, Vanderhoydonc F, et al: **Regulation of insulin-like**

- growth factor binding protein-1 during protracted critical illness. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 5516-5523, 2002.**
25. Frost RA, Nystrom GJ, Lang CH: **Stimulation of insulin-like growth factor binding protein-1 synthesis by interleukin-1beta: requirement of the mitogen-activated protein kinase pathway. *Endocrinology* 141: 3156-3164, 2000.**
26. Pihl S, Carlsson-Skwirut C, Berg U, et al: **Acute interleukin-6 infusion increases IGFBP-1 but has no short-term effect on IGFBP-3 proteolysis in healthy men. *Horm Res* 65: 177-184, 2006.**
27. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, et al: **Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA* 294: 813-818, 2005.**
28. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, et al: **APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 13: 818-829, 1985.**
29. Matsuo S, Imai E, Horio M, et al: **Revised equations for estimated GFR from serum creatinine in Japan. *Am J Kidney Dis* 53: 982-992, 2009.**
30. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al: **Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The**

- ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* **101**: 1644-1655, **1992**.
31. Dent CL, Ma Q, Dastrala S, et al: **Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study.** *Crit Care* **11**: R127, **2007**.
32. Hanley JA, McNeil BJ: **A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases.** *Radiology* **148**: 839-843, **1983**.
33. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL: **Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach.** *Biometrics* **44**: 837-845, **1988**.
34. Pencina MJ, D'Agostino RB, Sr., Demler OV: **Novel metrics for evaluating improvement in discrimination: net reclassification and integrated discrimination improvement for normal variables and nested models.** *Stat Med* **31**: 101-113, **2012**.

35. Pickering JW, Endre ZH: **New metrics for assessing diagnostic potential of candidate biomarkers.** *Clin J Am Soc Nephrol* **7**: 1355-1364, **2012**.
36. Yamashita T, Doi K, Hamasaki Y, et al: **Evaluation of urinary tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in acute kidney injury: a prospective observational study.** *Crit Care* **18**: 716, **2014**.
37. Yamashita T, Noiri E, Hamasaki Y, et al: **Erythropoietin concentration in acute kidney injury is associated with insulin-like growth factor-binding protein-1.** *Nephrology (Carlton)*, **2015**.
38. Lameire NH, Vanholder RC, Van Biesen WA: **How to use biomarkers efficiently in acute kidney injury.** *Kidney Int* **79**: 1047-1050, **2011**.
39. Seo DW, Li H, Qu CK, et al: **Shp-1 mediates the antiproliferative activity of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in human microvascular endothelial cells.** *J Biol Chem* **281**: 3711-3721, **2006**.
40. Stetler-Stevenson WG: **Tissue inhibitors of metalloproteinases in cell signaling: metalloproteinase-independent biological activities.** *Sci Signal* **1**: re6, **2008**.
41. Shigeta T, Aoyama M, Bando YK, et al: **Dipeptidyl peptidase-4 modulates left**

- ventricular dysfunction in chronic heart failure via angiogenesis-dependent and -independent actions. *Circulation* 126: 1838-1851, 2012.**
42. Doi K, Negishi K, Ishizu T, et al: **Evaluation of new acute kidney injury biomarkers in a mixed intensive care unit. *Crit Care Med* 39: 2464-2469, 2011.**
43. Doi K, Noiri E, Nangaku M, et al: **Repulsive guidance cue semaphorin 3A in urine predicts the progression of acute kidney injury in adult patients from a mixed intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant* 29: 73-80, 2014.**
44. Bagshaw SM, Bennett M, Haase M, et al: **Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness. *Intensive Care Med* 36: 452-461, 2010.**
45. Endre ZH, Kellum JA, Di Somma S, et al: **Differential diagnosis of AKI in clinical practice by functional and damage biomarkers: workgroup statements from the tenth Acute Dialysis Quality Initiative Consensus Conference. *Contrib Nephrol* 182: 30-44, 2013.**
46. Haase M, Devarajan P, Haase-Fielitz A, et al: **The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalin-positive subclinical acute kidney injury: a**

- multicenter pooled analysis of prospective studies. *J Am Coll Cardiol* 57: 1752-1761, 2011.**
47. Waikar SS, Betensky RA, Emerson SC, et al: **Imperfect gold standards for kidney injury biomarker evaluation. *J Am Soc Nephrol* 23: 13-21, 2012.**
48. Mehta RL, Bouchard J, Soroko SB, et al: **Sepsis as a cause and consequence of acute kidney injury: Program to Improve Care in Acute Renal Disease. *Intensive Care Med* 37: 241-248, 2011.**
49. Silva RC, Landgraf MA, Correa-Costa M, et al: **Acute kidney injury reduces phagocytic and microbicidal capacities of alveolar macrophages. *Cell Physiol Biochem* 31: 179-188, 2013.**
50. Burne-Taney MJ, Yokota N, Rabb H: **Persistent renal and extrarenal immune changes after severe ischemic injury. *Kidney Int* 67: 1002-1009, 2005.**
51. Kelly KJ: **Distant effects of experimental renal ischemia/reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol* 14: 1549-1558, 2003.**
52. Sumida M, Doi K, Ogasawara E, et al: **Regulation of Mitochondrial Dynamics by Dynamin-Related Protein-1 in Acute Cardiorenal Syndrome. *J Am Soc Nephrol*, 2015.**

53. Shiao CC, Wu PC, Huang TM, et al: **Long-term remote organ consequences following acute kidney injury.** *Crit Care* **19**: 438, **2015**.
54. Bihorac A, Chawla LS, Shaw AD, et al: **Validation of cell-cycle arrest biomarkers for acute kidney injury using clinical adjudication.** *Am J Respir Crit Care Med* **189**: 932-939, **2014**.
55. Hoste EA, McCullough PA, Kashani K, et al: **Derivation and validation of cutoffs for clinical use of cell cycle arrest biomarkers.** *Nephrol Dial Transplant* **29**: 2054-2061, **2014**.
56. Meersch M, Schmidt C, Van Aken H, et al: **Urinary TIMP-2 and IGFBP7 as early biomarkers of acute kidney injury and renal recovery following cardiac surgery.** *PLoS One* **9**: e93460, **2014**.
57. Meersch M, Schmidt C, Van Aken H, et al: **Validation of cell-cycle arrest biomarkers for acute kidney injury after pediatric cardiac surgery.** *PLoS One* **9**: e110865, **2014**.
58. Rogiers P, Zhang H, Leeman M, et al: **Erythropoietin response is blunted in critically ill patients.** *Intensive Care Med* **23**: 159-162, **1997**.
59. Wheatcroft SB, Kearney MT: **IGF-dependent and IGF-independent actions**



**of IGF-binding protein-1 and -2: implications for metabolic homeostasis.**

*Trends Endocrinol Metab* **20**: 153-162, **2009**.

60. Ezzat VA, Duncan ER, Wheatcroft SB, et al: **The role of IGF-I and its binding proteins in the development of type 2 diabetes and cardiovascular disease.**

*Diabetes Obes Metab* **10**: 198-211, **2008**.

61. Singh DK, Winocour P, Farrington K: **Erythropoietic stress and anemia in diabetes mellitus.** *Nat Rev Endocrinol* **5**: 204-210, **2009**.

62. Symeonidis A, Kouraklis-Symeonidis A, Psiroyiannis A, et al: **Inappropriately low erythropoietin response for the degree of anemia in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus.** *Ann Hematol* **85**: 79-85, **2006**.

63. Thomas MC, Tsalamandris C, Macisaac R, et al: **Functional erythropoietin deficiency in patients with Type 2 diabetes and anaemia.** *Diabet Med* **23**: 502-509, **2006**.

64. Craig KJ, Williams JD, Riley SG, et al: **Anemia and diabetes in the absence of nephropathy.** *Diabetes Care* **28**: 1118-1123, **2005**.

65. Koh GC, Peacock SJ, van der Poll T, et al: **The impact of diabetes on the pathogenesis of sepsis.** *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **31**: 379-388, **2012**.

66. Zarjou A, Agarwal A: **Sepsis and acute kidney injury.** *J Am Soc Nephrol* **22**: 999-1006, **2011**.
67. Bunes A, Roth A, Herrmann A, et al: **Identification of metabolites, clinical chemistry markers and transcripts associated with hepatotoxicity.** *PLoS One* **9**: e97249, **2014**.
68. Li HH, Doiron K, Patterson AD, et al: **Identification of serum insulin-like growth factor binding protein 1 as diagnostic biomarker for early-stage alcohol-induced liver disease.** *J Transl Med* **11**: 266, **2013**.
69. Hong SY, Yang DH: **Effect of periodic transfusion on erythropoietin concentration in end stage renal disease.** *Korean J Intern Med* **7**: 122-129, **1992**.

## 「謝辞」

本研究を進めるにあたり，ご指導をいただいた血液浄化療法部野入英世准教授，救急部・集中治療部土井研人講師，腎臓・内分泌内科南学正臣教授，救急部・集中治療部矢作直樹教授に心より感謝申し上げます。本研究に関してご助言・ご助力いただいた先端腎疾患病態研究グループ各位，救急部・集中治療部各位に感謝の意を表します。

本研究成果の一部は，以下の英文誌に掲載された。

1. Yamashita T, Doi K, Hamasaki Y, et al: **Evaluation of urinary tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in acute kidney injury: a prospective observational study.**

*Crit Care* **18**: 716, 2014.

Creative Commons Attribution License 4.0 に基づきライセンスされている

2. Yamashita T, Noiri E, Hamasaki Y, et al: **Erythropoietin concentration in acute kidney injury is associated with insulin-like growth factor-binding protein-1.**

*Nephrology (Carlton)*, **2015**.