

研修医のための教育講座

ループス腎炎における治療と尿中バイオマーカーの新展開

野崎 祐史

近畿大学医学部内科学教室 血液膠原病内科

Prospects of the urinary biomarker in lupus nephritis

Yuji Nozaki

Department of Hematology and Rheumatology, Kindai University School of Medicine

抄 録

ループス腎炎は末期腎不全に至り、透析導入を余儀なくされる全身性エリテマトーデスにおける重篤な合併症の一つである。International Society of Nephrology/Renal Pathology Society 2003 によってループス腎炎は class I から VI に分類され、class 別の治療法選択が推奨されている。そのためには腎生検での組織診断を行う事が望ましいが、侵襲的なために施行できない症例が存在する。以上の理由から腎組織における糸球体および尿細管間質性障害と相関する簡便な検査が望まれており、尿中バイオマーカーに対する研究が現在まで行われてきた。我々は急性腎障害の尿中バイオマーカーとして報告されている Kidney injury molecule-1 についてループス腎炎疾患活動性との相関を検討したところ、尿中 Kidney injury molecule-1 は活動性ループス腎炎では非活動性ループス腎炎に比べて上昇を認め、また腎病理組織において尿細管 Kidney injury molecule-1 発現と糸球体および尿細管間質性障害との相関を認めた。本稿ではループス腎炎における治療ガイドラインやトピックス、さらに新規に尿中バイオマーカーとして注目されている Kidney injury molecule-1 を中心に、ループス腎炎における尿中バイオマーカーの疾患活動性評価の有用性について概説する。

Key words: ループス腎炎, 尿中バイオマーカー, Kidney injury molecule-1

はじめに

ループス腎炎は全身性エリテマトーデス (SLE) の約30-50%に合併する腎炎であり¹, 多彩な自己抗体産生と免疫複合体の全身への結合組織, 特に腎組織における糸球体や血管壁に沈着する病変を特徴とする。また, 本邦では年間250-300名が透析導入に至ることは合併症として重篤であり, 透析導入年齢も他の慢性腎臓病と比べて若く, 医療経済において問題である²。

SLE 疾患活動性指標として抗 DNA 抗体や血清補体価などが挙げられるが, 必ずしも経過中に病勢と一致しないことは, しばしば日常診療において経験する。また, 疾患活動性の上昇しているループス

腎炎において赤血球, 白血球, 顆粒円柱, 白血球円柱などの各種細胞成分や円柱成分を広範に認める多彩な尿沈渣 (telescoped sediment) を呈する所見を認めることがあるが, 腎病理組織像まで予測し得る訳ではない。アメリカリウマチ学会の SLE 分類基準やそれを基にした我が国の特定疾患認定基準では, 0.5 g/日以上持続性蛋白尿, または細胞円柱の出現を基準としているが, SLE の病変は多彩であることに加えて抗リン脂質抗体症候群を合併している場合には血栓性病変や二次性血栓性微小血管症による腎病変が生じることもある。また, ループス腎炎の病理組織像は, ほとんど正常から半月体形成性糸球体腎炎など非常に炎症の程度が強い腎炎まで広範囲であり, すべての原発性糸球体腎炎の型がみられ

るのが特徴ある。International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) 2003 分類 (表 1) が日常診療に用いられており、ループス腎炎は class I から class VI に分類され³, class 間で腎予後が異なるため^{4,5}, class 別に治療法が推奨されている^{6,7}。従って、詳細に腎組織病変を評価することは、ループス腎炎の腎予後予測や治療法

決定に重要であることは言うまでもない。そのためには可能な限り腎生検による組織診断を行う事が望ましいが、腎生検は侵襲的な手技であり、治療経過中に何度も繰り返し施行できる検査ではない。また、検査の同意が得られない場合や抗凝固剤内服中による出血傾向など禁忌となる症例も少なくない。一方で、尿検査は非侵襲的で簡便であり、何度でも繰り返し採取が可能である。ループス腎炎における尿中バイオマーカーの疾患活動性評価としての有用性の報告は現在まで多くみられるが (表 2)⁸⁻¹⁸, 我々は急性腎障害 (AKI) の尿中バイオマーカーとして有用性が報告されている Kim-1 (Kidney injury molecule-1) に着目し、ループス腎炎における疾患活動性評価としての有用性を検討した。本稿ではループス腎炎における治療ガイドラインやトピックス、さらに新規に尿中バイオマーカーとして注目されている Kim-1 を中心に、ループス腎炎における尿中バイオマーカーの疾患活動性評価の有用性について概説する。

表 1 ループス腎炎の ISN/RPS 2003 分類の概略

I 型	微小メサンギウムループス腎炎
II 型	メサンギウム増殖性ループス腎炎 ¹⁾
III 型	巣状ループス腎炎 ²⁾ (50%未満の糸球体に管内性・管外性病変)
IV 型	びまん性ループス腎炎 ²⁾ (50%以上の糸球体に管内性・管外性病変)
	IV-S 型; びまん性分節性 ³⁾
	IV-G 型; びまん性全節性 ³⁾
V 型	膜性ループス腎炎 ⁴⁾
VI 型	進行した硬化性ループス腎炎 (90%以上の糸球体が全節性硬化)

¹⁾増殖性病変がメサンギウムに局限している場合

²⁾活動性病変 (A), 活動性・慢性病変 (A/C), 慢性病変 (C) を付記する。

³⁾病変を有する糸球体 50%以上が分節性病変を示す場合を IV-S 型, 50%以上が全節性病変を示す場合を IV-G 型とする。

⁴⁾III 型, IV 型に V 型が併存する場合は、膜性病変が広範 (50%を超える糸球体で, 50%を超える係蹄に病変) であれば, III+V 型, III+IV 型と併記する。(文献 3 より作成)

表 2 ループス腎炎における尿中バイオマーカー

バイオマーカー	発表年	症例数	文献
IL-6	1993	29	8)
MCP-1	2005	98	9)
Foxp3 mRNA	2009	25	10)
TNF-Like Weak Inducer of Apoptosis, OPG, MCP-1	2011	73	11)
sVCAM, sICAM	2012	121	12)
VCAM, MCP-1, CXCL-16	2012	74	13)
Free Light Chain	2013	43	14)
CD4, CD8	2013	46	15)
CD4	2014	186	16)
NGAL	2014	123	17)
Kim-1	2014	57	18)

略語

IL-6: interleukin-6, TNF: tumor necrosis factor, OPG: Osteoprotegerin, MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1, sVCAM: soluble vascular cellular adhesion molecules-1, sICAM: soluble intercellular cellular adhesion molecules-1, NGAL: neutrophil gelatinase-associated lipocalin, Kim-1: kidney injury molecule-1

ループス腎炎の治療

近年、アメリカリウマチ学会、KDIGO、欧州リウマチ学会と腎臓透析移植学会の合同組織 (EULAR/ERA-EDTA), アジアループス腎炎ネットワーク (ALMN) からループス腎炎治療に関するガイドライン・リコメンデーションが発表されている^{6,7,19,20}。各ガイドラインはこれまでの臨床成績を基礎に作成されているが、人種・民族に適合するように配慮されており、エビデンスが不十分な点に関しては各委員の意見が採用されている。主要なガイドラインとして 1960 年代より米国 NIH において、活動性増殖性ループス腎炎を対象とした、副腎皮質ステロイド (以下ステロイド) と免疫抑制剤に関する一連のランダム化比較試験 (RCT) が報告された²¹。本項ではステロイド以外の免疫抑制剤について解説する。

A. Cyclophosphamide

ステロイド単独群に対して cyclophosphamide (CY) 間欠静注療法 (IVCY) の有効性が示され、NIH 方式による治療法が確立し、当教室においても本ガイドラインに準じるプロトコルにて治療を行ってきた。点滴による IVCY 投与量はおよそ 1.0 g/m² (体表面積) × 6 回 (または 12 回) で 10 g 近く (または以上) の投与量になり、感染症や不可逆的卵巣機能不全などが認められ、妊娠可能年齢の女性において副作用が問題となる。現在における標準的治療法としては、IVCY/month × 6 回にて導入療法を行い、以降は azathioprine (AZA) 1-2 mg/kg による維持療法を行うプロトコルであるが、副作用の問題は解決

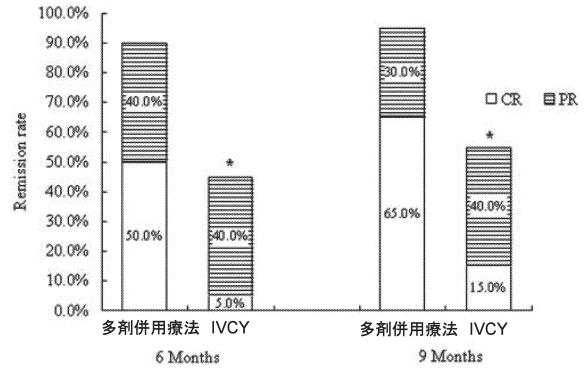
したわけではない。副作用軽減目的にてより低用量 IVCY (0.5 g×隔週×4回) の治療成績を検討した Euro-Lupus Nephritis Trial (ELNT) が欧州で行われ、同等の治療成績が示された²²。本試験結果は Euro-Lupus 方式の IVCY 療法としてガイドラインでも採用されている。

B. Mycophenolate mofetil (MMF)

MMF の活性体である mycophenolic acid (MPA) はプリン生合成経路内の inosine monophosphate dehydrogenase (IMPD) を不競合的・可逆的かつ特異的に阻害することにより DNA 合成を阻害することが知られている。香港のグループから MMF が経口 CY とほぼ同等の寛解導入効果を示すことが2000年に示された²³。その後 Ginzler らが米国で報告した試験では MMF は NIH 方式の IVCY よりも24週間後の寛解率が優れていたが、世界20カ国で施行された ALMS 試験では有意差は認められなかった^{24,25}。この結果では対象症例が前者の試験は黒人・ヒスパニック系が多く、また後者の試験解析では黒人・ヒスパニック系の IVCY の有効性が低かったことが影響しており、民族間において治療反応性が異なると考えられ、ガイドラインを参考に治療する際には注意を要する。一方、IVCY か MMF のどちらかによって寛解導入されたループス腎炎227例において、維持療法において AZA (111例) に比して MMF (117例) の有用性 (死亡、腎障害または腎炎再燃までの時間) が勝っていることが示された。また欧州からも ELNT プロトコルにおける IVCY に引き続き AZA と MMF 維持療法における有効性を比較した試験があるが、内容として IVCY+ステロイドにて寛解導入を施行された後、12週目から MMF (2 g/day) と AZA (2 mg/kg/day) にランダムに振り分けられ、維持療法が行われた。結果として有意差は両群間において認められなかった²⁶。2015年に公知申請が認可され、臨床現場において使用可能となり、当教室において以下の多剤併用療法を積極的に施行している。

C. 多剤併用療法 (multitarget therapy)

治療が不十分であるループス腎炎 class V+IV において新しい概念を導入した治療法が中国から報告されている²⁷。ループス腎炎 class V+IV と診断された40例が多剤併用 (MMF, tacrolimus, ステロイド) もしくは IVCY のどちらかにランダムに振り分けられた。結果として IVCY 群に比して多剤併用療法群は、6ヶ月後または9カ月後の寛解率が有意に高かったことが示された (図1)。



Bao H et al. J Am Soc Nephrol から改変抜粋

図1 ループス腎炎における多剤併用療法の治療効果
多剤併用療法において有意に反応性が IVCY に比べて優れていた。*P<0.05。

尿中バイオマーカーについて

バイオマーカーとは通常の生物学的過程、病理学的過程、もしくは治療的介入に対する薬理的応答の指標として、客観的に測定され評価される特性と定義されている²⁸。重要な役割として疾患の重症度の評価、早期の非侵襲的なスクリーニングと診断、疾患の層別化、予後予測および治療介入に対する反応性評価などがある。日常臨床においてはバイオマーカーとして血液検査、尿検査、CT や MRI などの画像検査が挙げられる。ループス腎炎における尿中バイオマーカーでは、1993年に Iwano らが報告した尿中 IL-6 は、活動性ループス腎炎29症例において非活動性ループス腎炎に比べて有意に上昇し、治療に反応することで低下することが示された⁸。また、尿中 IL-6 は腎組織分類 WHO IV型で他の組織型より上昇していることが示された。最近の報告では Dolff らが尿中 CD8+T 細胞数が活動性ループス腎炎46症例において非活動性ループス腎炎に比べて有意に上昇し、ループス腎炎寛解中に尿中 CD8+T 細胞は消失していることを報告した¹⁵。また、Enghard らが、活動性ループス腎炎186症例において尿中 CD4+T 細胞数が800個/100 ml 以上でならば、感度100%、特異度98%の確率で活動性ループス腎炎であることを報告した¹⁶。このようにループス腎炎の疾患活動性評価に有用な尿中バイオマーカーの報告は現在までに数多く報告されているが、未だに臨床応用可能な尿中バイオマーカーの発見には至っていないのが現状である。

そこで、我々はループス腎炎の疾患活動性評価と尿中バイオマーカーとして尿細管上皮に発現する Kim-1 の有用性について検討した¹⁸。

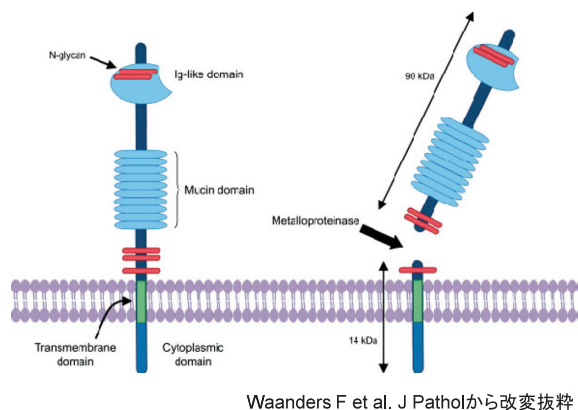


図2 Kim-1の構造

Kim-1を構成するタンパク質は、シグナルペプチドでIg領域とムチン領域から成る細胞外領域と膜成分および膜内領域を有する膜貫通型タンパク質である。このタンパク質はメタロプロテナーゼという酵素によって切断され、外領域(90 kDa)は尿に排泄される。そして、チロシンリン酸化された14 kDaの断片のみを膜に残すとされている。

Kim-1は尿細管障害の際に近位尿細管刷子縁に発現し、メタロプロテナーゼと呼ばれる酵素によって細胞膜から切断され、尿中に排泄される(図2)²⁹。そして排泄されたKim-1を測定することで尿中バイオマーカーとして定量評価する。また、腎組織において細胞膜に発現したKim-1を免疫組織染色することで発現量を病理組織において定量化することが可能である。Kim-1の尿中バイオマーカーとして過去の報告では、虚血性急性尿細管性壊死における尿中Kim-1量は造影剤腎症やその他の急性腎不全、慢性腎臓病症例および健康人に比べて有意に上昇していることを報告した³⁰。またChengらはIgA腎症において尿中Kim-1はループス腎炎、ANCA関連腎炎および特発性膜性腎症に比べて有意な上昇を示している³¹。しかし、ループス腎炎についてclass分類や糸球体、間質性組織障害程度などの詳細な記述はなく、その結果について議論の余地を有する。また、IgA腎症の尿中Kim-1は腎組織におけるメサンギウム細胞増殖、糸球体硬化、半月体形成および間質における細胞浸潤程度との相関を示し、尿中Kim-1が4.17 ng/mg urinary Cr以上で腎生存率の予後不良が示されている。以上から尿中Kim-1を評価することで腎組織障害の程度や腎生存率の予後規定因子となり得る可能性が慢性腎臓病であるIgA腎症で示されている。

尿中Kim-1のループス腎炎疾患活動性評価としての有用性について

我々は腎生検を施行したループス腎炎57症例にお

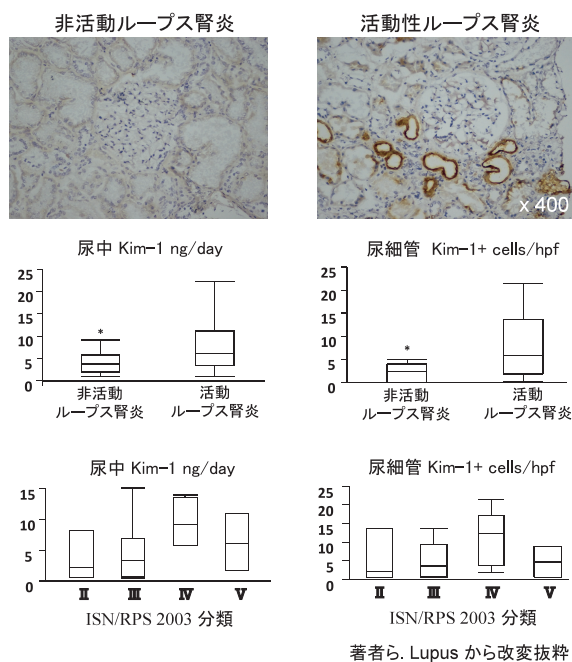


図3 ループス腎炎におけるKim-1の発現

非活動性ループス腎炎に比べて活動性ループス腎炎では間質性障害によって萎縮拡張した尿細管においてKim-1が染色されている。また、Kim-1染色は凍結切片においてpolyclonal goat anti-TIM-1抗体(R&D Systems, Minneapolis, MN)を使用し、ABC法によって染色した(×400倍)。尿中、腎組織における尿細管Kim-1は活動性ループス腎炎において増加を示していた。ISN/RPS 2003分類においてclass IVが最も尿中、尿細管Kim-1は発現が増加していた。

いて尿中バイオマーカーとして尿中Kim-1の有用性を検討した¹⁸。結果として、尿中および尿細管Kim-1発現は活動性ループス腎炎では非活動性ループス腎炎に比べて増加していた。ISN/RPS 2003分類においてclass IVでは他のclassに比べて尿中、尿細管Kim-1発現は共に上昇傾向を示していた(図3)。また、腎組織において糸球体メサンギウム細胞増殖、糸球体硬化、糸球体半月体形成および尿細管性間質障害程度と尿細管Kim-1発現は相関を示していた。間質細胞浸潤ではマクロファージとの相関は認めなかったが、CD3+T細胞と相関を示した。また、血清学的指標である補体価、anti-dsDNA ab、血沈、SLEDAIと尿細管Kim-1発現は相関を示さなかった。さらに、ループス腎炎において半月体形成や尿細管性間質障害程度は腎予後に重要な因子であるが、ROC曲線にて尿中Kim-1が11.2 ng/日以上であれば感度100%、特異度62.5%の確率で半月体形成が1個以上の存在を認めた。また、3.2 ng/日以上で感度87.5%、特異度60.8%の確率で尿細管性間質障害がGrade 2以上認め、その数値は正の相関を

示していた。また、腎生検施行時における尿中 Kim-1 は腎生検施行 6 か月後で随時尿中蛋白量とは相関は認めなかったが、6 か月後での eGFR と sCr とは相関を示しており、腎機能障害の進行を予測する可能性を認めた。結論として尿中 Kim-1 測定は腎生検を完全に代替できる訳ではないが、一定の腎組織障害程度を予測可能なことから、侵襲的な腎生検が何らかの理由で施行できない場合や外来でのループス腎炎疾患活動性評価のフォローアップに有用となる可能性があると考えられる。

おわりに

ループス腎炎は難治性病変であり、治療法については ISN/RPS 分類の組織型に応じた治療方針の決定が重要である。しかし、腎生検を施行できない症例や維持療法における治療経過を評価する指標として尿中バイオマーカーの研究が発展し、将来において治療方針決定する評価項目としての指標となることを期待する。

文 献

- Contreras G, et al. (2002) Lupus nephritis: a clinical review for practicing nephrologists. *Clin Nephrol* 57: 95-107
- 中井 滋, 花房規男, 政金生人ら. (2014) わが国の慢性透析療法の現況. *日本透析医学会雑誌* 47: 1-56
- Weening JJ, et al. (2004) The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 15: 241-250
- Yokoyama H, et al. (2004) The outcome and a new ISN/RPS 2003 classification of lupus nephritis in Japanese. *Kidney Int* 66: 2382-2388
- Hiramatsu N, et al. (2008) Revised classification of lupus nephritis is valuable in predicting renal outcome with an indication of the proportion of glomeruli affected by chronic lesions. *Rheumatology (Oxford)* 47: 702-707
- Bertsias GK, et al. (2012) Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA-EDTA) recommendations for the management of adult and paediatric lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 71: 1771-1782
- Kidney Disease: Improving global outcomes (KDIGO) glomerulonephritis work group. (2012) KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis. *Kidney Int* 2: 139-274
- Iwano M, et al. (1993) Urinary levels of IL-6 in patients with active lupus nephritis. *Clin Nephrol* 40: 33-37
- Rovin BH, et al. (2005) Urine chemokines as biomarkers of human systemic lupus erythematosus activity. *J Am Soc Nephrol* 16: 467-473
- Wang G, et al. (2009) Urinary FOXP3 mRNA in patients with lupus nephritis-relation with disease activity and treatment response. *Rheumatology (Oxford)* 48: 755-760
- El-Shehaby A, et al. (2011) Correlations of urinary biomarkers, TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK), osteoprotegerin (OPG), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), and IL-8 with lupus nephritis. *J Clin Immunol* 31: 848-856
- Howe HS, et al. (2012) Urine sVCAM-1 and sICAM-1 levels are elevated in lupus nephritis. *Int J Rheum Dis* 15: 13-16
- Singh S, et al. (2012) Urine VCAM-1 as a marker of renal pathology activity index in lupus nephritis. *Arthritis Res Ther* 14: R164
- Hanaoka M, et al. (2013) Urinary free light chain is a potential biomarker for ISN/RPS class III/IV lupus nephritis. *Rheumatology (Oxford)* 52: 2149-2157
- Dolff S, et al. (2013) Urinary CD8+ T-cell counts discriminate between active and inactive lupus nephritis. *Arthritis Res Ther* 15: R36
- Enghard P, et al. (2014) Urinary CD4 T cells identify SLE patients with proliferative lupus nephritis and can be used to monitor treatment response. *Ann Rheum Dis* 73: 277-283
- Torres-Salido MT, et al. (2014) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker for lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 29: 1740-1749
- Nozaki Y, et al. (2014) Estimation of kidney injury molecule-1 (Kim-1) in patients with lupus nephritis. *Lupus* 23: 769-777
- Hahn BH, et al. (2012) American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res* 64: 797-808
- Mok CC, et al. (2013) Overview of lupus nephritis management guidelines and perspective from Asia. *Int J Rheum Dis* 16: 625-636
- Boumpas DT, et al. (1992) Controlled trial of pulse methylprednisolone versus two regimens of pulse cyclophosphamide in severe lupus nephritis. *Lancet* 340: 741-745
- Houssiau FA, et al. (2002) Immunosuppressive therapy in lupus nephritis: the Euro-Lupus Nephritis Trial, a randomized trial of low-dose versus high-dose intravenous cyclophosphamide. *Arthritis Rheum* 46: 2121-2131
- Chan TM, et al. (2000) Efficacy of mycophenolate mofetil in patients with diffuse proliferative lupus nephritis. *Hong Kong-Guangzhou Nephrology Study Group. N Engl J Med* 343: 1156-1162
- Ginzler EM, et al. (2005) Mycophenolate mofetil or intravenous cyclophosphamide for lupus nephritis. *N Engl J Med* 353: 2219-2228
- Apple GB, et al. (2009) Mycophenolate mofetil versus cyclophosphamide for induction treatment of lupus

- nephritis. *J Am J Soc Nephrol* 20 : 1103-1112
26. Houssiau FA, et al. Azathioprine versus mycophenolate mofetil for long-term immunosuppression in lupus nephritis: results from the MAINTAIN Nephritis Trial. *Ann Rheum Dis* 69 : 2083-2089
27. Bao H, et al. Successful treatment of class V+IV lupus nephritis with multitarget therapy. *J Am Soc Nephrol* 19 : 2001-2010
28. Biomarkers Definitions Working Group. (2001) Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 69 : 89-95
29. Waanders F, et al. (2010) Kidney injury molecule-1 in renal disease. *J Pathol* 220 : 7-16
30. Han WK, et al. (2002) Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int* 62 : 237-244
31. Peng-Cheng X, et al. (2011) Urinary kidney injury molecule1 in patients with IgA nephropathy is closely associated with disease severity. *Nephrol. Dial. Transplant* 26 : 3229-3323