

<サンプル3>

アルブミン(Alb) 濃度 76.5 ± 9.8
mg/L、クレアチニン(Cre) 濃度 0.59
 ± 0.04 g/L、Alb/Cre 131.03 ± 19.62
mg/g·Cr

(3) 測定方法は免疫比濁法や免疫比
ろう法が安定していた。

D. 考察

糖尿病性腎症早期診断基準を作成
するにあたり、まず標準尿での検討を
行った。アルブミン濃度よりクレアチ
ニン濃度測定の方が誤差が少なかっ
た。尿検体のアルブミン濃度とクレア
チニン濃度を同時に測定し、Alb/Cre
を算出することにより、糖尿病性腎症
の早期診断における全国統一基準を
作成することが可能であると思われ
る。測定方法は免疫法が望まれる。

E. 結論

以上の結果・考察を踏まえて、今後
は、各年齢別のAlb/Creの正常値を設
定し、具体的な診断指針作りを行いた
い。

インスリン非依存型糖尿病(NIDDM)性腎症の発症・進展に関する
遺伝子解析に関する研究
研究者 富野 康日己 順天堂大学 腎臓内科

研究要旨

1000例を越えるNIDDM患者を対象にアンジオテンシン変換酵素(ACE)、アンジオテンシノーゲン(AGT)、アンジオテンシン受容体タイプ1(AT1R)の各遺伝子多型と腎症の発症・進展との関連性を検討した。このうち、ACEのDD genotypeをもつものは、primary endpointに達する時間がIDないしIIをもつものに比べて有意に短かく、顕性腎症を呈する群では、AT1R遺伝子多型のAC/CC genotypeをもつ女性患者のprimary endpointに達する時間は、AA genotypeをもつもののそれに比べて有意に短かった。

また、検討したすべての糖尿病患者においてAGT M235T genotypeとprimary endpointに達する時間の間に有意な相関はみられなかった。

A. 研究目的

糖尿病性腎症は、糖尿病患者の予後を規定する重要な因子であり、近年その発症と進展に関与する遺伝的背景が注目を集めている。特にレニン-アンジオテンシン系の遺伝子多型と

糖尿病性腎症進展とに関する報告は、国内外より多数なされている。しかしながら、症例数が、国内で100例から200例、海外でも300例から600例の範囲の解析にとどまっており、未だにはっきりした結論は出ていない。今回我々は、多施設から収集した1171例のNIDDM患者を対象にアンジオテンシン変換酵素、アンジオテンシノーゲン、アンジオテンシン受容体タイプ1の各遺伝子多型を調べ、腎症の発症・進展と各遺伝子多型との関連を検討した。

B. 研究方法

本学を含む5つの医療施設より1171例のNIDDM患者を収集し、腎障害の程度により3つのグループに分類した。Group Iは、糖尿病罹患歴10年以上で尿蛋白所見に異常を認めないもの(normoalbuminuria group)、Group IIは、尿中に微量アルブミンを認めるもの(microalbuminuric group)、Group IIIは、顕性腎症を呈しているもの(overt albuminuric group)である。Group IIIは、さらにIIIa; 腎機能正常群($s-Cr < 2\text{mg/dl}$)、IIIb; 腎機能は低下しているが、透析は施行していない群($s-Cr > 2.0\text{mg/dl}$)、IIIc; 透析群の3つのsubgroupに分類した。また、経過中に $s-Cr$ が 2.0mg/dl を越える、ないしは透析に至った時点をprimary endpointとした。

これらすべての患者に関し年齢・性別・眼底所見・糖尿病罹患期間・ヘモグロビンA1C・血圧などの臨床検査成績を収集した。同時に末梢血より抽出したDNAよりPCR法を用いてACE、AGT、AT1Rの各遺伝子多型を決定し比例ハザード回帰分析を用いて腎症の進展と各遺伝子多型との関連性を検討した

C. 研究結果

#1. 検討したすべての糖尿病患者においてACE, AGT, AT1Rそれぞれのアレルの頻度に有意な差は認められなかった。

#2. 検討したすべての糖尿病患者において、DD genotypeをもつものは、primary endpointに達する時間がIDないしIIをもつものに比べて有意に短かった。

#3. 検討したすべての糖尿病患者においてAGT M235T genotypeとprimary endpointに達する時間の間に有意な相関はみられなかった。

#4. Group IIIのAT1R遺伝子多型のAC/CC genotypeをもつ女性患者のprimary endpointに達する時間は、AA genotypeをもつもののそれに比べて有意に短かった。

#5. これら3つの遺伝子多型の組み合わせと腎症進展との間には有意な相関関係は認められなかった。

D. 考察

ACEのDD genotypeをもつものは、primary endpointに達する時間がIDないしIIをもつものに比べて有意に短かったことは、ACEのDアレルが腎症の進展に関与している。また、本研究ではAGTの遺伝子多型は、腎症の進展と明らかな相関は認められず、腎症進展の単独因子とは考えにくい。本研究で明らかになった最も興味深いことは、AT1RのAC/CC genotypeが、女性の腎症進展に関連のある可能性が示唆されたことである。AT1Rの遺伝子多型の意義やなぜ性差が認められるかについては、不明であるがAT1RがACEとともに腎症進展に何らかの関係がある可能性が示された。

E. 結論

糖尿病性腎症進展にレニン-アンジオテンシン系のACEならびにAT1Rの遺伝子多型が関連する可能性が示唆された。

F. 研究発表

Relationship between polymorphism in the angiotensinogen, angiotensin-converting enzyme or angiotensin II receptor (AT1R) and renal progression in Japanese NIDDM patients. Y. Tomino et al. (Nephron in press)

厚生省

健康科学総合研究事業

—糖尿病性腎症の診断指針・治療指針の作成—

「糖尿病性腎症に対する蛋白制限食の効果」

—多施設共同研究—

プロトコール

I. 研究目的

糖尿病性腎症に対する蛋白制限食の効果を検討する。

II. 対象

【選択基準】

1. NIDDM 症例、仮登録時（方法参照）65 歳未満、糖尿病罹病期間（推定）5 年以上の症例。ただし、仮登録時 65 歳以上 70 歳未満の NIDDM 症例も、糖尿病発生年齢（推定）が 60 歳未満で、かつ 2~5 の項目を満たし、除外基準に抵触しない場合は、仮登録可とする。
2. 糖尿病性腎症第 3 期（10g/day 未満の持続性蛋白尿—1 g/day 以上の蛋白尿あるいは少なくとも 1 回 24 時間尿で AER が $200 \mu\text{g}/\text{min}$ 以上—を有し、かつ酵素法で S-Cr 2.0mg/dl 未満）の症例。Jaffe 法で 2.0mg/dl 以上の症例に関しては、酵素法で測定してから仮登録する。
3. 糖尿病性網膜症（SDR 以上）を有する症例。

（但し、腎生検で腎症が診断されている症例では、糖尿病罹病期間 5 年未満あるいは網膜症を有さなくても仮登録可とする）
4. 蛋白摂取量として、通常の糖尿病食を指示されている症例（原則として 1.2g/kg/day 以上、体重は ideal BW ($\text{Ht}^2 \times 22$)を用いる）。
5. 同意が文書で得られた症例。

【除外基準】

1. IDDM 症例。
2. 他の腎疾患が疑われる症例。
3. 尿路感染症、心不全、重篤な肝障害を有する症例。
4. ACE 阻害薬を使用している症例（但し、同意の下に 3 ヶ月以上の wash out の後、観察期に入る予定であれば仮登録可）。
5. 治験薬（市販前）服用中の症例。
6. 既に蛋白制限食の指導を受けている症例（feasibility study で 0.8g/kg/day の指導を受けた症例を含む、但し、同意の下に観察期まで 3 ヶ月以上通常蛋白食の指導を受ける予定であれば仮登録可）。
7. 体重が標準体重の 80%未満の症例。
8. 他、担当医が不相当と判断した症例。

III. 研究方法

通常蛋白食群（蛋白摂取量 1.2g/kg/day 以上）と蛋白制限食群（蛋白摂取量 0.8g/kg/day）の 2 群をランダム化により比較する。倫理委員会の承認を経た後、該当症例を登録する。前観察期（3 ヶ月）の後、観察期として 5 年間の検討を実施する。毎年中間解析を行い、試験の続行・中止に関して検討する。前観察期は、現行の食事（蛋白摂取量 1.2g/kg/day 以上）を指導し、この間に 2 群の振り分けを行う。観察期の食事内容は以下の通りとする。

1. 蛋白摂取量： 通常蛋白食群：現行の食事（蛋白摂取量 1.2g/kg/day 以上）を継続。
 蛋白制限食群：蛋白摂取量を 0.8g/kg/day に減ずる。
2. エネルギー： 両群共に現行（前観察期）のエネルギーを継続する。

 （尚、蛋白制限食群では血清脂質に極端な変動が生じないように配慮する。また、蛋白制限群においてエネルギー不足と担当医が判断した場合、研究代表者と協議の上エネルギーを増加させることができる。）
3. 塩分等： 両群共に現行（前観察期）通りとする。
 但し、高血圧等の併発時には適正な指導を行う。

【研究期間】

平成 9 年 12 月 1 日より仮登録を開始する。3 ヶ月の前観察期の後、本登録を経て観察期に入る。以後、中止の決定がなされない限り 5 年間追跡調査する。

【研究方法の概要】

1. 症例の選択

- 1) 各施設で選択基準に合致し、除外基準に入らない症例を選択する。
- 2) 選択した症例について、24 時間蓄尿の訓練を行う。

2. 症例の登録

- 1) 同意書を得る。
- 2) 仮登録票に記入し、データ・センターに FAX する（仮登録）。
- 3) 仮登録が終了（データ・センターより連絡）時点で、前観察期に入る。
- 4) 仮登録適格症例に関しては本登録票に必要事項を記載しデータ・センターに FAX する。

本登録票に記載する data は、各施設で測定した仮登録前の仮登録時に最も近い時点（6 ヶ月以内）の data とする。

- a. 24 時間尿の蛋白量あるいはアルブミン排泄量
- b. 血清クレアチニン値および Ccr
- c. 高血圧 (140/90mmHg 以上もしくは降圧薬投与中) の有無
- d. HbA1c 値

但し、各施設で測定方法が異なる可能性があるため、症例の振り分け時の data に関しては、a および b は前観察期の 1 および 2 回目の data、c および d に関しては本登録票の data を使用する。また、本登録票記載時に 24 時間尿の data がない場合は、来院時尿の尿蛋白が持続的に定性 2+ 以上の場合にのみ、本登録票にその旨を記載する。尚、前観察期 1~2 回目の data により不適格と判断される場合もありえる。

3. 前観察期 (登録後 3 ヶ月間)

- 1) プロトコールに基づき、1 回/月で 24 時間尿の採取、採血を行う (計 3 回、最初 2 回の data を下記症例の振り分けに用いる。最終回の採血および 24 時間尿の採取は本登録適格確認後とし、採血は空腹時とする。).
- 2) 前観察期には、それまでの通常蛋白食 (1.2g/kg/day 以上) を継続指導する。但し、蛋白制限食を指導していた症例は、通常蛋白食を指導する。
- 3) 前観察期 1 および 2 回目の data に基づき症例の振り分けが行われる (下記参照)。蛋白制限食群に割り振られた症例については、最終受診日に 0.8g/kg/day の蛋白制限食を指導する。
- 4) ACE 阻害薬を投与されていた症例に関しては、前観察期に 3 ヶ月間の wash out を行う。
- 5) 本試験の前値としての data は前観察期の最終値を使用する。但し、尿中 Cr 排泄量が Cockcroft の式より計算した値の $\pm 25\%$ 以内に入らない場合は 2 回目もしくは 1 回目の data を採用する。この場合は蓄尿不足 (過剰) と解釈し、研究分担者 (下記) が担当医に連絡、患者への指導を行う。
- 6) 観察期に入る前に可能な限り GFR の測定および lean body mass の測定を行う (1 回)。
- 7) 尚、やむを得ぬ事情*により前観察期が 3 ヶ月を超えても差し支えないが最大 6 ヶ月とする)。この場合も前観察期の検査は 3 回とする。

*やむを得ぬ事情:

- a. 蛋白制限食を指導していた症例を仮登録し、通常蛋白食の指導に時間がかかる場合
 - b. GFR 測定が可能だが、時間がかかる場合
 - c. DEXA を用いた lean body mass 測定が可能だが、時間がかかる場合
- 8) 仮登録後、QOL の調査を行う。

4. 症例の振り分け (データ・センター)

データ・センターでは、前観察期の間、症例を通常蛋白食群 (1.2g/kg/day 以上) と蛋白制限食群 (0.8g/kg/day) の 2 群に振り分ける。その際、

- 1) 年齢
- 2) 性別
- 3) 血清 Cr 値および Ccr
- 4) 尿蛋白量

に、2 群間で有意差の出ないように配慮する。可能であれば、HbA1c 値および高血圧の頻度にも差がないように考慮する。

尚、振り分けの際には、上記の如く、3) および 4) に関しては、前観察期 1 および 2 回目の data を採用する。他は本登録票の data を採用する。また、振り分けの結果、各施設にいずれかの群の症例数が増加してもやむを得ない。

データ・センターは、適格症例を本登録し、振り分けの結果と共に担当医に連絡する。この連絡を受け、担当医は前観察期最後の検査を行い、観察期に入る。

5. 観察期 (5 年間)

- 1) 最初 3 ヶ月は 1 回/月で食事指導および食事調査を行う。その後の食事指導および食事調査も 1 回/月で行うことが望ましいが、少なくとも 1 回/3 ヶ月では行う。
- 2) プロトコールに従って検査を行う (QOL の調査を含む)。
- 3) 24 時間尿の採取は、観察期開始後 3 ヶ月間は 1 回/月で行い、以後 1 回/3 ヶ月で行う。可能であれば観察期開始後 3 ヶ月以降も、各施設で 1 回/月 24 時間尿を採取し、各症例の蛋白摂取量を算出して食事指導を行うことが望ましい。尚、センター検査に基づき、蓄尿の適正さおよび蛋白摂取量を研究分担者 (下記) が検討し、不適切と考えた場合は担当医に連絡する。
- 4) 高血圧に対し薬物療法が必要となった場合は、Ca 拮抗薬を中心とした治療を行う。
(ACE 阻害薬は使用しない)
- 5) 他の併発症 (高脂血症を含む) に対しては、適切な治療を行う。重篤な併発症が生じた場合は、直ちに研究代表者に連絡し、研究継続に関する指示を仰ぐ。

IV. 観察項目

【各施設で測定】

1. 身長（前のみ）、体重（前3回、以後3ヶ月毎）、血圧（前3回、以後3ヶ月毎）
2. 1) DEXAを用いた lean body mass の測定（可能な限り、前1回、および終了または中止時）
2) GFR : Ccr 以外の方法（inulin、iothalamate、iohexol、^{99m}Tc-DTPA を用いた腎シンチグラフィのいずれか）を用いて GFR を測定する（可能な限り、前1回、以後年1回）実施する。観察期間を通じ方法を変更しないこと。
両者とも、実施不可能な施設は可能な限り実施可能な施設に依頼する。
3. 採血および他の検査（前1回、および終了または中止時）：
CBC、LFT、胸部レ線、ECG、眼底検査（経過表に記載の項目）
4. 検尿（前3回、以後3ヶ月毎）、必要があれば沈渣

【センターで測定】

1. 24時間尿検体-1（前3回、観察期開始3ヶ月まで1ヶ月毎、以後3ヶ月毎）：
TP、Alb、Cr、UN
2. 24時間尿検体-2（前1回、以後年1回）：
Na、K、Cl、Ca、P
3. 採血（前3回、以後3ヶ月毎）： Cr、HbA1c
4. 空腹時採血（前1回、以後年1回）：
TP、ALB、BUN、Cr、Lipid (TC、TG、HDL-C)、Apolipoprotein、Transferrin、FPG、HbA1c、Na、K、Cl、Ca、iP、UA、Fe
5. ACE genotype 検索（検査センターから富野班に検体を提出、ACE 遺伝子の D/I genotype を解析）

【各症例に依頼】

1. QOL の調査（SF-36 日本語版を用いる、前1回、以後年1回）

【尿検体採取方法】

24時間尿全量を各施設に持参させ、全量をセンターに提出する（指定の容器を使用する。尿量測定等はセンターで行う）。

【重要項目の検査方法】

1. 血清・尿 Cr : 酵素法
2. 尿中アルブミン : 免疫法
3. 尿蛋白 : PR（ピロガールレッド・モリブデン錯体）法

V. 解析項目、解析方法

1. 主要解析項目

- 1) Ccr の低下速度および $1/\text{Cr}$ の傾き
- 2) 血清 Cr が前値の倍になる症例の頻度

2. 副解析項目

- 1) GFR の低下速度
- 2) AER あるいは尿蛋白量および Ccr の絶対値あるいは変化率

3. 解析方法

- 1) Ccr、 $1/\text{Cr}$ あるいは GFR の低下（前値に対するパーセント変化）に直線あてはめを行い、その結果を群間で Wilcoxon 検定により比較する。
- 2) 血清 Cr が前値の 2 倍になるまでの時間を time-to-failure 解析法でまとめ、群間で比較する。Kaplan-Meier 法で集計し、log-rank 検定で比較を行う。
- 3) AER あるいは尿蛋白量および Ccr の絶対値あるいは変化率の推移については、時間を考慮した分散分析により、群間比較を行う。
- 4) 群間比較のみでなく、達成された平均蛋白摂取量を 4 段階に分け、群間比較を各項目毎に行う。

4. 中間解析

- 1) 倫理的配慮の観点から、試験の継続の可否および試験期間の適切性等を検討する為に、中間解析を試験開始後年 1 回行う。
- 2) 解析は、Lan-DeMets の方法により多重性を考慮して行う。有意水準の決定は初回の中間解析時まで、登録状況を勘案して行う。解析結果は、Independent Study Monitoring Committee および研究代表者に提出される。

5. 症例の取り扱い

- 1) 正しく開始された適格例全体を対象として解析を行う。
- 2) 血清 Cr が倍になった症例、および透析を開始した症例は試験を中止するが、それらの症例には各項目無限値を与える。
- 3) その他の脱落に対しては欠損のままとする。
尚、脱落症例に関しても可能な限り追跡調査を行う。

VI. 目標症例数

解析対象症例として 200 例

(試験の実施可能性から算定した。試験途中で盲検下において変更する可能性がある。)

VII. 研究組織

【研究代表者】

滋賀医科大学第三内科
教授 吉川隆一

【生物統計解析責任者】

東京大学大学院医学系研究科
教授 大橋靖雄

【研究分担者】

東海大学医学部腎代謝内科教授 堺秀人
順天堂大学医学部腎臓内科教授 富野康日己
国立佐倉病院臨床研究部長 山田研一
秋田県成人病医療センター研究室長 猪股茂樹
奈良県立医科大学第一内科講師 金内雅夫
新潟大学医学部第二内科講師 鈴木芳樹
滋賀医科大学医学部第三内科講師 羽田勝計

【研究協力者】

別紙（基幹施設：13 施設、関連施設：14 施設、計 27 施設）

【Independent Study Monitoring Committee】

杏林大学医学部第一内科教授 長澤俊彦
昭和大学藤が丘病院内科客員教授 越川昭三
東急病院病院長 酒井 紀
滋賀医科大学名誉教授 繁田幸男
オブザーバー：東京大学大学院医学系研究科教授 大橋靖雄

【データ・センター】

イー・ピー・エス株式会社
（管理責任者：長岡達磨、担当責任者：田添浩子、担当：松澤由紀、栄養士：長井知恵美）
TEL：0120-128873（フリーダイヤル）/03-3815-2935
FAX：0120-128874（フリーダイヤル）/03-3815-2936

【検査センター（窓口）】

株式会社 エスアールエル・テイジンバイオ（担当：小林素秋、黒瀧剛良）
TEL：042-548-7814
FAX：042-548-7817

【事務局】

滋賀医科大学医学部第三内科 羽田勝計、古家大祐、北里みゆき
TEL：077-548-2222
FAX：077-543-3858

