

200400523A

厚生労働科学研究費補助金

循環器疾患等総合研究事業

「糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療」

に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 槇野 博史

平成17 (2005) 年 4月

## 目 次

### I. 総括研究報告

- 糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療 . . . . . 1  
榎野博史

### II. 分担研究報告

1. 血圧測定の指導と評価に関する研究 . . . . . 9  
鈴木芳樹
2. 治療の効果評価に必要な症例数および生物統計解析手法について . . . . . 11  
川上憲人
3. 糖尿病性腎症に対する蛋白制限食の効果 . . . . . 17  
古谷大佑
4. 「糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療」研究 . . . . . 25  
山田研一
5. 糖尿病性腎症患者の病期進行における血中AGEの関連性の検討 . . . . . 31  
富野康日己
6. 糖尿病性腎症の新規マーカーのスクリーニング . . . . . 37  
羽田勝計
7. 多施設共同研究事務局 . . . . . 39  
糖尿病性腎症の予後予測因子としての炎症マーカーに関する研究  
四方賢一

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

### IV. 研究成果の刊行物・別冊

# I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等総合研究事業）  
総括研究報告書

研究課題 糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療

主任研究者 榎野博史 岡山大学大学院医歯学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学・教授

研究要旨 「糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療」に関して、

1) プロトコールの作成、必用症例数の検討、症例登録のための Web site の構築、研究協力施設の選定と、Independent Study Monitoring Committee の委員の選任を行った。2) 「糖尿病性腎症に対する蛋白制限食の効果」の多施設共同研究を継続した。現時点で 116 症例を蛋白制限食群 (58 症例) および通常蛋白食群 (58 症例) に振り分け観察期に移行している。Independent Study Monitoring Committee 会議を行い、その評価と進言に従い、今後、新たな登録は行わず、現在、登録中の 116 症例を継続して 5 年間に亘り観察していくこととした。栄養調査上、前観察期では A 群と B 群の間で蛋白摂取量に有意差を認めず、観察期では、A 群 (蛋白摂取量; 0.92g/kg) は B 群 (蛋白摂取量; 1.11g/kg) に比較し、有意に低値であり、食事調査上からは指導が的確に行われたと考えられるが、蛋白摂取制限に伴って蛋白以外のカルシウム、ビタミンなどの栄養素の摂取量が不足する傾向が認められたため、糖尿病性顕性腎症の栄養指導法に大きな問題を残し、検討すべき課題となった。3) 糖尿病性腎症患者の病期進行における血中 AGE 濃度の関連性を検討するための予備的研究として、糖尿病モデルマウスの腎臓における AGE と AGE receptor (RAGE) の発現を検討した。その結果、糖尿病マウスの糸球体では AGE 蛋白と RAGE 蛋白の産生亢進がみられ、ARB (candesartan) 投与によって有意な低下が認められた。4) 糖尿病性腎症の診断および経過観察のための新規マーカーを同定する目的で、プロテインチップにて尿中蛋白プロファイリングを行なった。その結果、分子量 97 kDa にピークを示す蛋白が新規マーカーとなりえる可能性が示唆された。5) 糖尿病性腎症の新しい予後予測因子としての炎症マーカーを探索するために、糖尿病患者における炎症性サイトカイン濃度を測定した。その結果、血清 IL-18 濃度が糖尿病性腎症の新しい予後予測因子となる可能性が示された。

分担研究者

羽田勝計 旭川医科大学 教授

古家大祐 滋賀医科大学 講師

富野康日己 順天堂大学医学部 教授

鈴木芳樹 新潟大学保健管理センター 教授

山田研一 国立病院機構千葉東病院臨床研究センター 部長

川上憲人 岡山大学大学院医歯学総合研究科 教授

四方賢一 岡山大学医学部歯学部附属病院 講師

A. 研究目的

わが国では、糖尿病患者の増加に伴って、糖尿病性腎症の増加が続いている。糖尿病性腎症は、1998年以降は慢性血液透析導入の原因疾患の第1位となっており、2003年には新規慢性血液透析導入患者約34,000人のうち41%を占めた。血液透析療法後の糖尿病患者の予後は極めて不良であり、透析導入後の5年生存率は約50%である。従って、糖尿病性腎症の発症・進展を予防することは、国民衛生と医療経済の両面から危急の課題となっている。糖

尿病治療には、医師とコメディカルスタッフによるチーム医療を行う必要があり、糖尿病専門医療機関と一般医療機関との間の病診連携が重要である。米国ではCertified diabetes educator (CDE) 制度が確立され、糖尿病専門のコメディカルスタッフが糖尿病治療の場で重要な役割を果たしている。我が国でも、糖尿病療養指導士認定機構による糖尿病療養指導士の認定が始まり、現在約10,000名が認定を受けている。本研究は、糖尿病性腎症患者に医師と糖尿病療養指導士がチーム医療で強力な治療介入を行うことにより、腎症の進行を抑制できるか否かを明らかにすることを目的としている。本研究により、腎症の進展を防止し、さらに寛解させるための集約的治療法が確立されれば、糖尿病患者の予後の改善と医療費削減に大きな効果が期待できる。

また、糖尿病性腎症に対する蛋白質制限の有効性については現在まで十分なエビデンスが得られていない。このため、平成13年度より行ってきた「糖尿病性腎症に対する蛋白制限食の効果」に関する多施設共同研究を継続することによってその有効性が確認されれば、糖尿病性腎症の食事療法の確立に向けて大きな成果となる。

一方、糖尿病性腎症の発症・進展に対する臨床マーカーとしてはアルブミン尿、蛋白尿、クレアチンクリアランス等が用いられているが、さらに鋭敏な予後予測因子が必要である。本研究では、1) 糖尿病性腎症患者の血中AGE濃度が腎症進展のマーカーとなりうるか否かを検討する。本年度は、糖尿病モデル動物で、腎組織でのAGE産生を確認し、アンジオテンシンIIタイプ1受容体ブロッカー (ARB) であるcandesartanを用いてAGE抑制効果を確認する。2) プロテインチップを用いて、糖尿病患者尿中に含まれる蛋白を分析することにより、糖尿病性腎症の新規マーカーのスクリーニングを行う。3) 近年の研究結果より、糖尿病性腎症の成因に炎症メカニズムが

関与していることが示唆されている。そこで、糖尿病性腎症患者の血中および尿中のサイトカイン、ケモカイン、細胞接着分子濃度を測定して、これらの炎症関連分子の中から、腎症に関する新たな治療マーカーを探索する。

## B. 研究方法

### 1. 糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療に関する多施設共同研究。

全国の多施設において、顕性腎症例 600 名を対象として、血清クレチニン値正常群 (プロトコールA) と血清クレアチニン高値群 (プロトコールB) の 2 群に分け、それぞれ集約的治療群と従来療法群に無作為に割り付ける。プロトコールAでは、主要評価項目を尿中蛋白排泄量とし、網膜症の進行を副次評価項目とする。プロトコールBでは、血清クレアチニン値の 2 倍化、透析療法への導入 (腎死) および死亡を 1 次エンドポイント、心血管イベントの発生、網膜症の進行を 2 次エンドポイントとする。両プロトコールともに、前向き臨床試験で、総観察期間は 5 年を予定している。毎年中間解析を行い、研究継続に関しては Independent Study Monitoring Committee の指示を仰ぐ。主要解析項目の測定は検査センターで行い、症例の割り付け・解析等は、生物統計解析責任者の指導の下で行う。

### 2. 糖尿病性腎症に対する蛋白制限食の効果に関する多施設共同研究。

全国37施設において、顕性腎症116例を対象として、蛋白制限食 (0.8 g/kg/日) の効果を、通常蛋白食 (1.2 g/kg/日) 群と比較検討する。2004年12月末現在、平均観察期間は約39.1ヶ月であり、今後、総観察期間5年を予定している。

### 3. 糖尿病性腎症患者の病期進行における血中AGEの関連性の検討

糖尿病モデルマウスである KK/Ta マウスを、(1)6 週齢より 22 週間 candesartan を 4mg/kg/day 飲水投与した早期治療群 (n=6)、(2)12 週齢より 16 週間投与した後期治療群 (n=6) と、(3)未治療

群(n=6)の3群に分類した。それぞれの群に対して28週齢で糸球体のAGE、receptor for AGE (RAGE)の発現を免疫組織染色およびRT-PCRで評価した。また、各群について尿中アルブミン/尿中クレアチニン比(ACR)と全身血圧を測定し、血糖値は糖負荷試験で評価して比較した。

#### 4. 糖尿病性腎症新規マーカーのスクリーニング

非糖尿病健常者2例、正常アルブミン尿(30 mg/日以下)呈する2型糖尿病患者2例、微量アルブミン尿(30-300 mg/日)を呈する糖尿病患者2例、顕性腎症(300 mg/日以上)を呈する糖尿病患者2例から採取した尿を対象として、SELDIプロテインチップ(サイファージェン社)にて尿中蛋白プロファイリングを行った。

#### 5. 糖尿病性腎症の新しい予後予測因子としての炎症マーカーを探索

2型糖尿病患者82例(腎症1期:41例、2期:31例、3期:10例)と健常者19例の血清中、尿中IL-6およびIL-18濃度、血清中高感度CRP(hsCRP)を測定して比較するとともに、腎症の指標として尿中アルブミン濃度、動脈硬化の指標としてABI、baPWVおよび内頸動脈の内膜肥厚度(IMT)を測定して相関を検討した。

(倫理面への配慮)

「糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療に関する多施設共同研究」は、岡山大学医学部歯学部附属病院の治験審査委員会に申請中である。さらに、参加予定施設の倫理委員会に申請して審査を受ける予定である。「糖尿病性腎症に対する蛋白制限食の効果」に関する多施設共同研究は、滋賀医科大学及び共同研究施設の倫理委員会の承認を受けており、担当医師或いは治験コーディネーターが説明を行い、同意は文書で得ている。両研究とも、個人情報外部に漏れることのないように、各症例のデータはデー

タセンターの専属管理責任者が管理する。また、症例に不利益が生じることのないように、研究の継続に関して生物統計生物責任者及びIndependent Study Monitoring Committeeが研究成果を評価する。全ての研究は、各研究施設の倫理委員会の承認を得て、同意を得た上で行う。

#### C. 研究結果

##### 1. 糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療に関する研究。

研究計画に従って、初年度はプロトコール検討会を4回行い、研究プロトコールを別記のように決定した。全国で41の研究協力施設を選定し、Independent Study Monitoring Committeeの委員を、独立行政法人大学入試センター所長荒川正昭氏、滋賀医科大学学長吉川隆一氏、杏林大学学長長澤俊彦氏、日本専門医認定機構代表理事酒井紀氏、中部労災病院院長堀田饒氏に委嘱した。この他に日本腎臓学会と日本糖尿病学会を通して、研究協力施設の公募を行うことに決定した。研究に使用する家庭血圧計はオムロンHEM-747ICに決定し、早朝血圧のデータを専用のソフトウェアで解析することとした。本研究は、岡山大学医学部歯学部附属病院治験審査委員会に審査を申請した。今後、各参加施設の倫理委員会に申請する予定である。

##### 2. 糖尿病性腎症に対する蛋白制限食に関する多施設共同研究。

全症例はデータ・センターにて、年齢、性別、血清Cr及びCcr、高血圧の頻度、HbA1c、そして尿蛋白量に関して2群間で有意差のないように、通常蛋白食A群(1.2g/kg/day)と蛋白制限食B群(0.8g/kg/day)の2群に振り分けている。観察期の患者数は、2004年12月現在105症例であり、本登録後中止症例が51症例(A群;19例、B群;32例)、進行中の登録症例35症例(A群;18例、B群;17例)、観察期終了症例30例(A群;21例、B群9例)である。観察期症例数の観察期間は、蛋白制

限食群平均 40.89 ヶ月 (1~60 ヶ月)、通常蛋白食群 37.71 ヶ月 (2~60 ヶ月) であった。

#### <中間解析結果>

1) 性別、年齢、身長、体重、血清 Cr、Ccr、尿蛋白量、HbA1c、高血圧の頻度に蛋白制限食群と通常蛋白食群間には差はなかった。

2) 食事調査からの蛋白摂取量は、 $P<0.001$  にてすべての観察期間で蛋白制限食群と通常蛋白食群間で差がみられた。観察期間の尿中尿素窒素排泄量から算出した蛋白摂取量も、両群間で  $P<0.087$  と差がみられる傾向であった。

3) Ccr の傾き、 $1/\text{血清 Cr}$  の傾き、血清 Cr の倍化日数に、蛋白制限食群と通常蛋白食群間に差はなかった。しかし、尿蛋白及びアルブミン排泄量には、観察期 30 ヶ月以降に差がみられる傾向にあった。

以上の結果を Independent Study Monitoring Committee 会議で報告した結果、本研究のように「長期に亘る蛋白摂取量の糖尿病性腎症に対する効果」を検討している臨床研究は有意義であり高く評価できるが、さらに食事指導を強化するよう勧告を受けた。さらに、目標期間の 5 年間を目指し観察を継続すべきであるとの指導を受けた。

### 3. 糖尿病性腎症患者の病期進行における血中 AGE の関連性の検討

未治療の糖尿病モデルマウスでは、非糖尿病マウスと比較してアルブミン尿の増加と、糸球体における AGE 蛋白と RAGE 蛋白の産生亢進がみられた。candesartan 投与により、アルブミン尿と糸球体の AGE と RAGE の発現が有意に低下した。

### 4. 糖尿病性腎症新規マーカーのスクリーニング

正常者に認められた分子量 97 kDa にピークを示す蛋白は、糖尿病性腎症の病期とともに減少し、顕性腎症期にはほぼ消失していた。他にも、アルブミンと同一あるいは異なる挙動を呈するピークが認められた。

### 5. 糖尿病性腎症の新しい予後予測因子としての炎症マーカーの探索

2 型糖尿病患者では、健常人に比較して血中 IL-18 濃度の上昇が見られた。血清 IL-18 濃度と尿中アルブミン排泄率 (AER) との間に強い相関を認めた。さらに、血清 IL-18 濃度と baPWV および IMT との間にも正の相関を認めた。さらに、血清 IL-18 高値群では 6 ヶ月後の AER が有意に増加したが、低値群では増加を認めなかった。

#### D. 考察

### 1. 糖尿病病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療に関する研究。

本研究は、糖尿病性腎症患者に医師と糖尿病療養指導士がチーム医療で強力な治療介入を行うことにより、腎症の進行を抑制できるか否かを明らかにすることを目的としている。本研究により、腎症の進展を防止し、さらに寛解させるための集約的治療法が確立されれば、糖尿病患者の予後の改善と医療費削減に大きな効果が期待できる。

本研究の必要症例数については、集約治療により従来治療より 33% エンドポイントの発生を減少されることのできる場合でも、症例数を最低 1 群 150-200 例 (合計 300-400 例) 収集する必要が示された。この症例数は、見逃しの可能性を 50% として計算したものであり、最小限の症例数と考えられる。このため、41 の研究協力施設を選定した。症例登録と管理を web site で行うことにより、研究を円滑に進行させることが出来ると期待される。

### 2. 糖尿病性腎症に対する蛋白制限食に関する多施設共同研究。

中間解析の結果、Ccr の低下速度、及び  $1/\text{Cr}$  の傾き、血清 Cr が前値の倍になる症例の頻度、Ccr の絶対値あるいは変化率には両群間に差がみられていないが、AER あるいは尿蛋白量には、観察期 30 ヶ月以降に両群間で差がみられ、観察を目標の 5 年間に亘り継続する必要がある。

食事調査から算出した蛋白摂取量は、すべての観察期で両群に差が認められ、蛋白制限群 (0.8 g/kg/day) と通常蛋白食群 (1.2 g/kg/day) の 2 群に分けられていた。また、尿中尿素窒素

排泄量から算出した蛋白摂取量に関しても両群間に少ないながら差がみられた。今後、本研究の目的である食事蛋白摂取量を蛋白制限群 (0.8 g/kg/day) と通常蛋白群 (1.2 g/kg/day) の2群に層別するため、栄養士による食事指導を少なくとも1ヶ月に1回のペースで継続していくこと、さらに本年度、新たに導入したデジタルカメラによる写真撮影によって、食事指導をより一層徹底するとともに、蛋白摂取量の結果と食事の雛形を各施設に送付することとした。

### 3. 糖尿病性腎症患者の病期進行における血中 AGE の関連性の検討

今回の予備研究で、糖尿病性腎症の早期から糸球体に AGE 蛋白と RAGE 蛋白の産生亢進がみられることが確認された。また、治療によるアルブミン尿の改善に伴って AGE および RAGE の蛋白発現低下が認められたことから、AGE が糖尿病性腎症進展の早期マーカーになりうる可能性が考えられた。今後、ヒト糖尿病性腎症の各病期における血中 AGE を測定し、腎症進行の程度と血中 AGE 値との相関をみることにより、血中 AGE が糖尿病性腎症進展の早期マーカーになりうるか否かについて検討する予定である。

### 4. 糖尿病性腎症新規マーカーのスクリーニング

プロテインチップを用いた尿蛋白の解析は、糖尿病性腎症の新たなマーカーを検出するのに有用であると考えられた。今後、本手法を用いたスクリーニングを繰り返すと共に、症例数を増やすことで、腎症のマーカーとしての意義がより明確になると考えられる。

### 5. 糖尿病性腎症の新しい予後予測因子としての炎症マーカーを探索

炎症性サイトカインである IL-18 が、動脈硬化のみならず腎症の進展を予測する鋭敏な指標となりうる可能性が示されるとともに、糖尿病性腎症の成因に微小な炎症が関与するという我々の仮説が裏付けられた。「糖尿病性

腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療に関する研究」の症例において経時的に血清 IL-18 濃度を測定して、この結果を確認する予定である。また、これ以外の炎症に関連する指標として、MCP-1 や IP-10 などのケモカインや、ICAM-1 などの可溶性接着分子濃度を測定して、腎症との関連を検討する予定である。

### E. 結論

糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療に関する研究は、プロトコール作成、研究協力施設の選定、Independent Study Monitoring Committee 委員の選任、症例登録のための web site の構築を終え、症例登録を開始する。

糖尿病性腎症に対する蛋白制限食の効果に関する多施設共同研究は円滑に推移しているが、より一層、食事指導の強化を行い、観察期間計5年を目指す。加えて、栄養指導及の徹底化を図る。

糖尿病モデルマウスを用いた検討から、AGE が糖尿病性腎症進展の早期マーカーになりうる可能性が考えられた。

プロテインチップを用いた研究により、分子量 97kDa の蛋白がアルブミンとは異なる腎症のマーカーとなり得る可能性を見出した。

糖尿病性腎症患者の血中、尿中の炎症関連分子濃度を測定した結果、糖尿病性腎症の成因に炎症が関与しており、IL-18 は腎症の進展を予測する鋭敏な指標になりうる事が示唆された。

本研究によって、腎症の進展を防止し、さらに寛解させるための集約的治療法と、そのための臨床マーカーを確立することにより、糖尿病患者の予後の改善と医療費削減に大きな効果が期待できる。

### F. 健康危険情報

なし。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表



- 1) 榎野博史：糖尿病性腎症の寛解を目指した  
降圧療法. 腎疾患・透析最新の治療  
2005-2007. 飯野靖彦, 榎野博史編. 南江堂：  
28-31, 2004.
- 2) 榎野博史：糖尿病性腎症の治療. 日本医師会  
雑誌 131:459-465, 2004

## 2. 学会発表

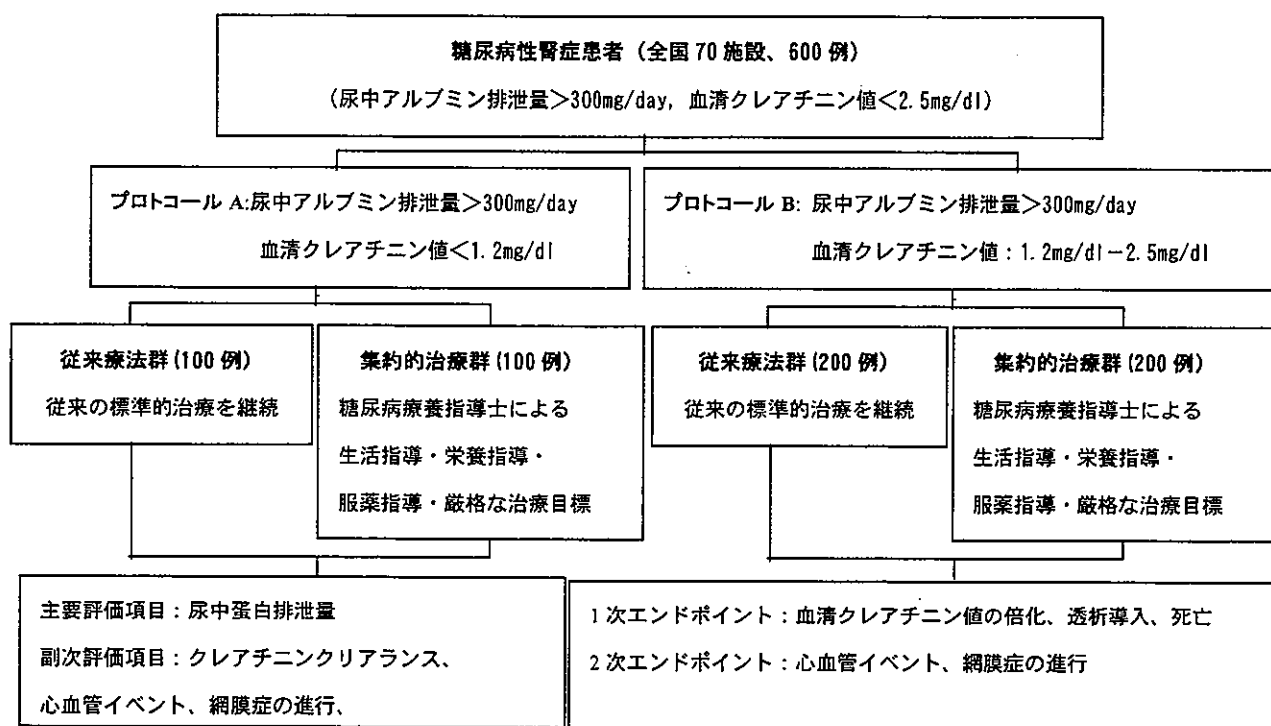
なし。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

## 糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療（DNETT-JAPAN） —プロトコール—

- 1) 顕性腎症期の糖尿病症例を対象に、従来療法群と集約的治療群に無作為に割付けて、腎症の進行を比較する多施設ランダム化前向き臨床研究を行う。
- 2) 従来療法群は、原則として現在行っている治療を変更しない。治療目標値は日本糖尿病学会が提唱する値を参考とする（糖尿病治療ガイド：日本糖尿病学会，文光堂）。
- 3) 集約的治療群は、日本糖尿病療養指導士認定機構が認定した糖尿病療養指導士を中心としたコメディカルスタッフと医師によるチーム医療を行う。従来の治療よりも厳格な治療目標を設定する。



### 治療目標

<治療目標>	従来療法群	集約的治療群
ヘモグロビンA1c	<6.5%	<5.8%
血圧	<130/80mmHg (治療薬は限定せず)	<125/75mmHg ACE阻害薬またはアンギオテンシンII受容体拮抗薬を使用する。 早朝家庭血圧を自己測定する。
総コレステロール	<200mg/dl (治療薬は限定せず)	<180mg/dl (スタチン系薬剤を使用)
食事: 総エネルギー	25-30kcal/kg	25-30kcal/kg
食塩	6g/日	5g/日
蛋白質	1.0g/kg/日	0.8g/kg/日
その他		生活指導・禁煙指導を行う サプリメントを使用する

## Ⅱ. 分 担 研 究 報 告

分担研究報告書

糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療

— 血圧測定 の 指導 と 評価 に 関 する 研 究 —

分担研究者 鈴木芳樹 新潟大学保健管理センター教授

研究要旨

糖尿病性腎症の寛解を目指したチーム医療による集約的治療を確立するために、集約的治療法群と従来療法群に分類した治療プロトコルを検討した。両群における項目、特に、血圧の目標値、測定方法および治療法などについて、大規模臨床試験を中心とした文献的な検索を行い、適切で実行可能な方法を作成した。

A. 研究目的

治療プロトコルを作成するために、集約的治療法群と従来療法群における、血圧の目標値、測定方法および治療法を決定する。

B. 研究方法

目標値や治療法については、大規模臨床試験の成績やJSHガイドライン2004などから文献的に検討する。測定方法や機器などは、<http://www.dablededucational.org/index.html> から情報を収集する。

C. 研究結果

血圧目標値は、従来療法群で130/80 mmHg、集約的治療法群で125/75 mmHgが妥当と考えられた。測定方法は、外来血圧は水銀血圧計により座位で2回測定しその平均値を用いる。集約的治療法群では、OMRON HEM-747 ICにより家庭血圧も連日測定し、血圧目標値を達成する指導と、外来血圧と比較する評価のために使用する。また、降圧薬については、集約的治療法群ではACE阻害薬あるいはAR拮抗薬を使用し、従来療法群では薬剤を限定しない。

D. 考察

血圧については、現時点で最も適切なプロトコルと考えられる。集約的治療法群の血圧目標値の達成率の低いことが、他の大規模臨床試験から報告されているが、本研究では多くの職種によるチーム医療が特徴であり、その努力により達成率の向上が期待できる。

E. 結論

大規模臨床試験などの文献的な検討から、集約的治療法群と従来療法群における、血圧の目標値、測定方法および治療法を決定した。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

## 治療の効果評価に必要な症例数および生物統計解析手法について

川上憲人（岡山大学大学院医歯学総合研究科・教授）

要旨：糖尿病性腎症例を対象に強力で厳格な治療介入（集約的治療）を行うことにより腎症の進行を阻止し寛解させる治療法の確立のために実施される5年間の無作為臨床試験において、適切な研究デザインを設定し、感度の高い統計学的解析を実施するため、本年度は2つの研究を実施した。（1）エンドポイントとしてクレアチニンの2倍化発現率をとりあげ、有意水準（ $\alpha$ ）0.05、見逃しの確率（ $\beta$ ）0.50、集約治療群と従来治療群の同2倍化発現抑制効果を19%減（リスク比0.81）および33%減（同0.66）に設定し、必要症例数を算出した。2倍化発現抑制効果が33%減の場合1群144~145症例が、同19%減の場合には1群約500症例が必要であった。最低限1群150症例を収集し、集約治療の効果を最大限に発現する研究デザインが必要と考えられた。（2）集約治療のエンドポイントに対する効果の評価だけでなく、血圧、血糖値、血清コレステロール値、蛋白摂取量などのどの中間指標が集約治療群における患者のエンドポイント改善に寄与したかという疑問に対する適切な統計学的解析手法を検討するため主にRENNAL研究に関連した文献に基づき検討した。介入→中間指標→エンドポイントという関係を明確にすることのできる解析はBrennerら(2001)の使用した時間依存変数を用いたCox比例ハザード分析であると考えられた。しかし同様に時間依存変数を使用しながら、①より間隔の短い受診により中間指標を詳細に測定し、②エンドポイント発生前の3ヶ月程度の平均測定値を予測に用いることで、さらに適切な統計学的解析が可能と考えられた。

### A. 研究目的

本研究班では、糖尿病性腎症例を対象に、医師と糖尿病療養指導士が参加するチーム医療により強力に厳格な治療介入（集約的治療）を行うことにより、腎症の進行を阻止し、さらに寛解させる治療法の確立を目指し、多施設において、顕性腎症例を対象として、集約的治療群と従来療法群に無作為に割り付け、血清クレアチニン値の2倍化、透析療法への導入（腎死）および死亡を1次エンドポイント、心血管イベントの発生、網膜症・神経障害の進行を2次エンドポイントとして観察期間は5年間の前向き臨床試験を行う予定である（附録）。本研究では、特に生物統計解析責任者として症例の割り付け・解析等についての技術的支援を行い、適切な研究デザインの設定およ

び適切で感度の高い統計学的手法による結果の解析を行う。そのための一環として本年度は2つの研究を実施した。

適切な研究デザインの設定のためには、真実の関連性を見逃す過誤（ $\beta$ エラー）を考慮しながら、効果評価に必要な症例数を事前に算定し、これを目標に全国の施設から症例を収集する必要がある。初年度の平成16年度は、まず治療効果評価に必要な症例数について算定した。

一方、データの統計解析においては、介入群（集約治療群）と対照群（従来治療群）との間の生命表分析や前後での治療指標の比較による通常の効果評価に加えて、血圧、血糖値、血清コレステロール値、食事中たんぱく摂取量などどのような中間指標が集約治療群における患者の予後の改

善に寄与したかという疑問に対しても何らかの解析を行う必要がある。しかしながら、この解析では①エンドポイントが時間経過のある時点で発生する、②中間指標は一定期間（例えば1ヶ月ごと）に継続して測定される、③エンドポイント発生直前の中間指標の値は必ずしも重要でないかもしれない、などの特徴を持っており、この特徴を考慮した解析手法を検討する必要がある。本年度はこの解析手法についても考察を加えた。

## B. 対象と方法

### 1. 治療効果評価に必要な症例数について

#### 1) 必要症例数の一般的な算出法

統計学的検定は、無限の母集団から抽出された有限の標本集団（サンプル）において観察された事実がもとの母集団で真実であるかどうかを確率的に表現する手法である。本研究班ではわが国のあらゆる糖尿病性腎症例から、参加施設をその期間に受診したなどの理由で選ばれた腎症例を集約治療群と従来治療群に区分してもし集約治療群の方がよりよい予後を示したとした場合、その結果（集約治療群の方がわずかでもよい予後を示す）ことがわが国のあらゆる糖尿病性腎症例においてどの程度の確率で真実であることを示すのが統計学的検定である。多くの医学研究では、この確率が信頼度95%以上、つまり信頼度を1から減じた危険率では5%未満の場合に「有意」と呼び、母集団でもこの結果が真実であると考えるのが慣例となっている。この危険率は有意水準とも呼ばれ、本当は母集団では結果は真実ではないのに標本からそのように統計学的に推測してしまう誤り（ $\alpha$ エラー）の確率を意味している。一方、母集団でその結果は真実なのにもかかわらず、いろいろな条件のために標本からの統計学的な推測において誤って「母集団では真実とは言えない」と結論してしまうこともある（ $\beta$ エラー）。 $\beta$ エラーの確率は、症例数が少なかったり、両群での改善の差が小さかったり、有意水準が厳しい（より小さい）かったりすると大きくなることは直感的にも理解できる。つまり、治療効果評価に

必要な症例数は、有意水準（ $\alpha$ エラー）をいくつにするか、見逃しの確率（ $\beta$ エラー）をいくつまでに抑えたいか、介入群と対照群の予想改善率はどうなのか、でおおよそ決まる。

条件を単純にし、2群の症例数が等しいとした場合には、1群に必要な症例数  $n$  は、有意水準（ $P$ 値） $=\alpha$ 、真実を見逃す確率 $=\beta$ 、介入群の予想改善率  $P_a$ 、対照群の予想改善率  $P_b$  によって下記のように決まる。

(1) カイ二乗検定による場合（ $P=(P_a+P_b)/2$ 、 $Z_\alpha$ 、 $Z_\beta$ は確率 $\alpha$ 、 $\beta$ に対応する正規分布表の値）（濱島, 1993）

$$n = \frac{\{Z_\alpha \sqrt{2P(1-P)} + Z_\beta \sqrt{P_a(1-P_a) + P_b(1-P_b)}\}^2}{(P_a - P_b)^2}$$

(2) 生命表（Logrank 検定）による場合（ $Z_\alpha$ 、 $Z_\beta$ は確率 $\alpha$ 、 $\beta$ に対応する正規分布表の値）（Gail, 1985）

$$n = (Z_\alpha + Z_\beta)^2 (1/P_a + 1/P_b) / \log(r)^2$$

$\alpha$ は医学研究の慣例に従って0.05に設定されることが多い。また介入群と対照群の予想改善率は先行研究の結果やこれまでの臨床経験などからおおよそめどをつけることができる。見逃しの確率 $\beta$ をいくつに設定するかについては研究目的により異なった考え方もあるが、一般的には0.50（五分五分で真実を確認できる）の場合の症例数を最低限度の症例数と考えることが多い。今回はこの前提の上で、本研究班の臨床試験に必要な症例数を計算した。

### 2. 治療効果の要因分析の統計学的手法について

血圧、血糖、血中脂質、蛋白摂取量などの中間指標のいずれかが改善したことが良好な治療効果を生んだかについて解析を行うためのモデリングと統計学的手法について文献的検討を行った。  
Reduction of Endpoints in NIDDM (non-insulin-dependent diabetes mellitus) with the Angiotensin II Antagonist Losartan

(RENAAL)研究に注目し、この研究から2005年1月までに公表された論文(原著、総説)をpubmedで検索し、①中間指標がエンドポイントに及ぼす影響、②介入が中間指標に及ぼす影響、③介入→中間指標→エンドポイントの関連性を解析した方法論を収集し整理した。その上で、上記の目的に添った統計学的解析手法について考察した。

### C. 結果

#### 1. 治療効果評価に必要な症例数について

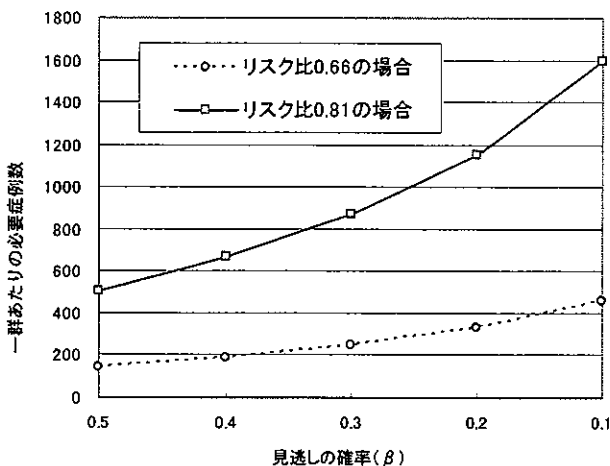
クレアチニンの2倍化発現率をエンドポイントとし、以下の2つのケースについて必要症例数を計算する。なお $P=0.05$ の片側検定を行うと仮定した。

ケース1: アンギオテンシン受容体拮抗薬の大

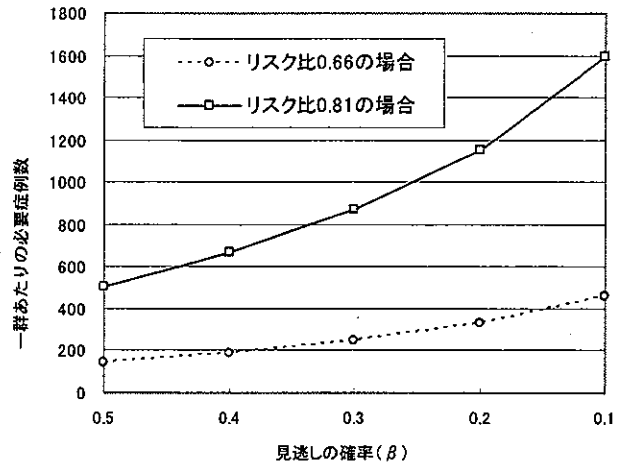
規模スタディ(RENAAL) (Brenner et al. 2000 & 2001)を参考に、投与開始後4年間のクレアチニンの2倍化発現率がプラセボ群(762例)で26.0%、ロザルタン投与群(751例)で21.6%とした研究結果を当てはめた場合。つまりクレアチニンの2倍化発現率が集約治療群では従来治療群に比べて0.81倍におさえられると仮定した場合。

ケース2: 同2倍化発現率が集約治療群では従来治療群に比べてさらに効果的に、 $2/3(=0.66)$ 倍までおさえられると仮定した場合。

以下に5年間のクレアチニンの2倍化発現率の両群の差に対するカイ二乗検定使用時、同2倍化発現率を生命表分析したLogrank検定使用時について、それぞれ見逃しの確率 $\beta$ と必要症例数との関係を示す。



カイ二乗検定使用時



Logrank 検定使用時

図1 本臨床試験(5年間追跡)における見逃しの確率( $\beta$ )別の1群あたり必要症例数。有意水準( $\alpha$ ) $=0.05$ 、両群の症例数は同じとした。クレアチニンの2倍化発現率が集約治療群21.6%、従来治療群26.0%(リスク比0.81)とした場合および同2倍化発現率のリスク比0.66とした場合を示した。

いずれの検定法でも必要症例数はほぼ同一である。見逃しの確率 $\beta=0.50$ の場合、ケース1ではカイ二乗検定使用時に一群504例、Logrank検定使用時に一群503例が必要である。同じくケース2ではカイ二乗検定使用時に一群144例、Logrank検定使用時に一群145例が必要である。

#### 2. 治療効果の要因分析の統計学的手法について

##### 1) ベースラインの中間指標とエンドポイントとの関連性

RENAAL研究に関連した65編の論文が収集された。ベースラインで測定された血圧などの中間

指標とエンドポイントとの関連性を、両群をプールして(Bakris et al. 2003)、あるいは群ごとに(Keane et al. 2003)解析した研究がある。この方法ではベースラインでの中間指標が一般的にどの程度予後を予測するかという情報は得られるが、介入がどのような機序で予後を改善したかについての情報は得ることができない。

## 2) 介入・対照両群での中間指標の改善の比較

介入群と対照群で、さまざまな中間指標をベースラインと追跡終了時点で測定しておき、その改善の程度(前後差)を両群で比較した研究がある(Appel et al. 2003)。この方法では、介入によってどのような中間指標が変化するかを知ることができ、介入とエンドポイントとの間に介在する中間指標をふるいわけすることができる。しかし有意に介入群で改善した中間指標がエンドポイントの改善に寄与したかどうかは厳密には立証できない。

## 3) 時間依存変数を使用した解析

RENNAL 研究では、患者は3ヶ月ごと(場合によってはより短期間)に受診し血圧の測定を受けた。この受診ごとに測定された血圧(平均血圧)を時間依存変数(time-dependent variable)として使用したCox 比例ハザード分析により、血圧への効果を除外しても介入群と対照群の間にはなお予後に差があったと結論している(Brenner et al., 2001)。この方法はエンドポイント直前の中間指標(この場合は血圧)の影響を除いて介入の効果を検証することができる優れた方法の1つと考えられる。しかし最後の血圧測定とエンドポイント発生までの時間間隔は患者によってまちまちである。またエンドポイント直前の血圧がエンドポイントの発生にもっとも重要な測定値かどうかについては疑問もある。例えば直前半年から1年の血圧が緩徐な腎障害の進行にはもっと重要であるかもしれない。

Shahinfar et al (2002)は、尿蛋白はロザルタンの介入効果の50%を説明するが、なお尿蛋白では説明できない効果があると解析している。上記と同様時間依存変数として尿蛋白を使用しCox 比

例ハザード分析を行っているとは推測されるが、十分な情報がなく判断できない。

## D. 考察

### 1. 治療効果評価に必要な症例数について

必要症例数については、集約治療により従来治療より33%エンドポイントの発生を減少されることのできる場合でも、症例数を最低1群150-200例(合計300-400例)収集する必要があると示された。この症例数は、見逃しの可能性を50%として計算したものであり、最小限の症例数と考えられる。もし集約治療の効果がこれより小さく、RENNAL 研究程度(19%のエンドポイント減少)であれば1群500例の症例が必要となる。従って治療効果を最大限に発揮できる強力な集約的治療が実施されることも効果を検証する上では必須の条件である。

### 2. 治療効果の要因分析の統計学的手法について

血圧、血糖、血中脂質、蛋白摂取量などの中間指標のいずれが改善したことが良好な治療効果を生んだかについて解析を行うためのモデリングと統計学的手法についてRENNAL 研究に関連した論文を収集し、文献的に検討した。

先行研究にもみられたように、中間指標がエンドポイントに与える影響については、ベースラインの中間指標とエンドポイントとの関係を群別に解析する、両群で中間指標の改善を比較するなどの手法がある。これ以外にも良好な治療効果が見られた群と、見られなかった群とで各要因のベースラインからの変化を、共分散分析や多重レベル分析で解析することも考えられる。

しかし、介入→中間指標→エンドポイントという関係を明確にすることのできる解析は、Brennerら(2001)の使用した時間依存変数を用いたCox 比例ハザード分析であると考えられる。しかしBrennerら(2001)の方法では、最終の中間指標(血圧)測定からエンドポイントまでの期間が1~3ヶ月の範囲で症例によってばらつきがあること、1回の血圧測定値を緩慢な進行をする腎



障害のエンドポイント予測に使用することが有効であるかどうか必ずしも明確でない点が限界となっている。

これに対して、同様に時間依存変数を使用しながら、①より間隔の短い受診により中間指標を詳細に測定し、②エンドポイント発生前の3ヶ月程度の平均測定値を予測に用いることで、さらに適切な統計学的解析が可能と考えられる。この解析のイメージを図2に示した。

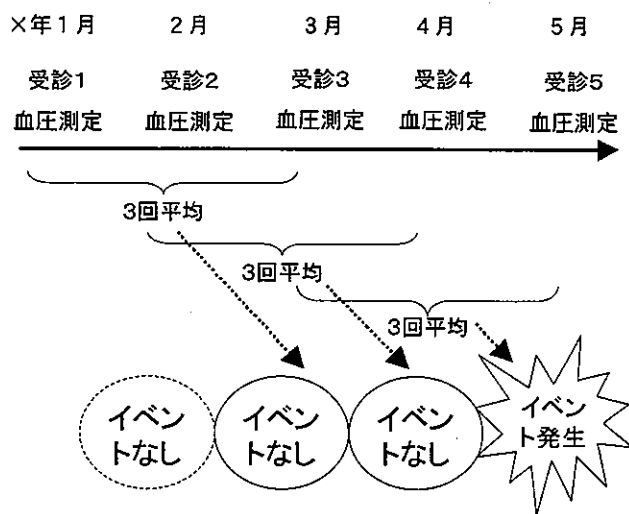


図2 時間依存変数を用いた中間指標（血圧を例）のエンドポイント発生イベントへの影響の解析イメージ。この症例では、1～3月の平均血圧はイベントなしと関係、2～4月の平均血圧もイベントなしと関係、3～5月の平均血圧がイベント発生と関係した。この情報を全症例で解析する。

例えば毎月受診し、中間指標（血圧）を測定すれば、最終測定からエンドポイント発生までの期間は1ヶ月以内に限定される。3回の受診（3ヶ月）の平均値を使用することで、慢性の腎障害の進行モデルに近い数学モデルとすることができる。この数学モデルは、比較的簡単に時間依存変数を使用したCox比例ハザード解析で解析することができ実用的でもある。

介入の効果が例えば何%説明できたかについては、まず介入の有無の変数とエンドポイントとのCox比例ハザード解析を実施し、その後時間依存変数を投入する。投入前後での介入の有無の変数のエンドポイントへの寄与（回帰係数）を比較

することで、中間指標がどの程度介入効果を説明しているかを推定することが可能になる。

集約治療群内だけならこの解析方法は問題なく使用可能である。しかし今回の研究計画では従来治療群の受診間隔は6ヶ月に1回であるため、厳密にはこれまで述べた解析方法を適応できない。集約治療群と従来治療群の比較を行う場合には、集約治療群のデータから6ヶ月間隔の測定値を抽出して比較可能なようにデータ可能にする必要がある。また厳密には集約治療群と従来治療群の別と中間指標のエンドポイントへの効果は独立ではないため、多重レベル分析を使用する必要がある。しかし現時点で多重レベル分析を用いた生命表分析を可能にする汎用のソフトウェアが存在しないためこの点は今後のソフトウェア開発を待たなくてはならない。

#### E. 結論

糖尿病性腎症例を対象に強力な厳格な治療介入（集約的治療）を行うことにより腎症の進行を阻止し寛解させる治療法の確立のために実施される5年間の無作為臨床試験において、適切な研究デザインを設定し、感度の高い統計学的解析を実施するため、本年度は2つの研究を実施した。

エンドポイントとしてクレアチニンの2倍化発現率をとりあげ、有意水準（ $\alpha$ ）0.05、見逃しの確率（ $\beta$ ）0.50、集約治療群と従来治療群の同2倍化発現抑制効果を19%減（リスク比0.81）および33%減（同0.66）に設定し、必要症例数を算出した。2倍化発現抑制効果が33%減の場合1群144～145症例が、同19%減の場合には1群約500症例が必要であった。最低限1群150症例を収集し、集約治療の効果を最大限に発現する研究デザインが必要と考えられた。

集約治療のエンドポイントに対する効果の評価だけでなく、血圧、血糖値、血清コレステロール値、蛋白摂取量などのどの中間指標が集約治療群における患者のエンドポイント改善に寄与したかという疑問に対する適切な統計学的解析手法を検討するため主にRENNAL研究に関連した

文献に基づき検討した。介入→中間指標→エンドポイントという関係を明確にすることのできる解析は Brenner ら(2001)の使用した時間依存変数を用いた Cox 比例ハザード分析であると考えられた。しかし同様に時間依存変数を使用しながら、①より間隔の短い受診により中間指標を詳細に測定し、②エンドポイント発生前の3ヶ月程度の平均測定値を予測に用いることで、さらに適切な統計学的解析が可能と考えられた。

#### F. 健康危機情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

#### I. 引用文献

濱島信之. 無作為割付臨床試験. 癌と化学療法社, 1993.

Gail MH. Applicability of sample size calculations based on a comparison of proportions for use with the logrank test. Control Clin Trials. 6(2):112-9, 1985.

Brenner BM, Cooper ME, De Zeeuw D, et al.

Effect of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. N Engl J Med 345:861-869, 2001

Brenner BM, Cooper ME, De Zeeuw D, et al. The losartan renal protection study: rationale, study design and baseline characteristics of RENAAL (Reduction of Endpoints in NIDDM with the Angiotensin II Antagonist Losartan). J Renin Angiotensin Aldosterone Syst 4:328-335, 2000.

Bakris GL, Weir MR, Shanifar S, et al. Effects of blood pressure level on progression of diabetic nephropathy: results from the RENAAL study. Arch Intern Med. 163(13):1555-65, 2003.

Keane WF, Brenner BM, de Zeeuw D, et al. The risk of developing end-stage renal disease in patients with type 2 diabetes and nephropathy: the RENAAL study. Kidney Int. 63(4):1499-507, 2003.

Appel GB, Radhakrishnan J, Avram MM, et al. Analysis of metabolic parameters as predictors of risk in the RENAAL study. Diabetes Care. 26(5): 1402-7, 2003.

Shahinfar S, Dickson TZ, Ahmed T, et al. Losartan in patients with type 2 diabetes and proteinuria: Observations from the RENAAL Study. Kidney Int Suppl.(82):64-7, 2002.

研究課題：糖尿病性腎症に対する蛋白制限食の効果

分担研究者 古家 大祐 滋賀医科大学 内科 講師

研究要旨「糖尿病性腎症に対する蛋白制限食の効果」の多施設共同研究を継続している。研究協力者、データ・センター、検査センターを含む研究組織の構築を行い、現時点で116症例を蛋白制限食群（58症例）および通常蛋白食群（58症例）に振り分け観察期に移行している。Independent Study Monitoring Committee 会議を行い、その評価と進言に従い、今後、新たな登録は行わず、現在、登録中の116症例を継続して5年間に亘り観察していくこととした。また、食事調査及び尿中尿素窒素排泄量から算出した食事蛋白摂取量が、蛋白制限食群において0.8 g/kg/日に、通常蛋白食群において1.2 g/kg/日となるよう食事指導を徹底化していくことを目指した。

#### A. 研究目的

日本透析医学会の統計によると2003年に透析療法に導入された糖尿病性腎症患者数は全導入患者数中41.0%を占め年々増加の一途を辿っている。さらに、糖尿病性腎症の透析患者は導入後の予後も他疾患に比し極めて不良であり、大きな医学的・社会的問題となっている。従って、糖尿病性腎症に対する蛋白制限食の効果に関する科学的根拠を検証することにより、透析療法に導入される糖尿病性腎症患者数を減少させることが本研究の目的である。

##### 1) 研究協力者

秋田県成人病医療センター 研究室

医師；猪股茂樹

栄養士；福島徹

福島県立医科大学 第三内科

医師；渡辺毅、橋本重厚、中嶋真一

栄養士；中村啓子

新潟大学医学部 保健管理センター

医師；鈴木芳樹、斉藤亮彦

栄養士；小林洋子

国立病院機構千葉東病院 臨床研究センター

医師；山田研一

栄養士；宮内真弓

順天堂大学医学部 腎臓内科

医師；富野康日己、四家敏秀、合田朋仁

栄養士；鈴木和子、池田理香

済生会中央病院 内科

医師；栗山哲

栄養士；中村康

北里大学医学部 内科

医師；守屋達美、田中啓司

栄養士；佐藤照子、人見麻美子

東海大学医学部 腎代謝内科

医師；堺秀人、谷亀光則、鈴木大輔

栄養士；藤井穂波

国立金沢病院 内科

医師；木田寛、土山奈央美

栄養士；山本辰子

滋賀医科大学 内科	町立大淀病院 内科
医師；古家大祐	医師；西浦公章
栄養士；岩川裕美	栄養士；林野支圭子
奈良県立医科大学 第一内科	大阪労災病院 内科
医師；金内雅夫	医師；野村誠
栄養士；蔵敷好美	栄養士；吉田奈津子
大阪大学医学部大学院医学系研究科	佐世保市立総合病院 内科
医師；山崎義光	医師；浪江智
栄養士；石井和子	栄養士；藤木みどり
長崎大学医学部附属病院 腎疾患治療部	大垣市民病院 内科
医師；原田孝司、宮崎正信、川崎英二	医師；青木孝彦
栄養士；松下七寶恵	栄養士；清水睦美
秋田赤十字病院 内科	新潟厚生連豊栄病院 内科
医師；村田雅彦	医師；柄澤 良
栄養士；土田美恵子	栄養士；桑原久世
財団法人大原総合病院	総合病院取手協同病院
医師；谷牧夫	医師；椎貝達夫、小林隆彦
栄養士；阿部美智子	栄養士；小林君枝
君津中央病院 内科	群馬大学医学部第二内科
医師；内田大学	医師；宇都木敏浩
栄養士；江尻喜三郎	栄養士；佐藤汐路
順天堂大学浦安病院 内科	至誠会第二病院糖尿病内科
医師；林野久紀	医師；高野靖子
栄養士；尾崎眞五	栄養士；久保つぎ子
東京慈恵会医科大学糖尿病代謝内	大阪市立総合医療センター内科・透析部
医師；宇都宮一典	医師；今西政仁、岡田範之
栄養士；蒲池桂子	栄養士；藤原紀代子、中村典子
本厚木メディカルクリニック	旭川赤十字病院 内科
医師；金重秀明	医師；森川秋月
栄養士；宅万弘美	栄養士；佐々木智子
黒部市民病院 内科	東京女子医科大学糖尿病センター
医師；家城恭彦	医師；馬場園哲也、石井晶子
栄養士；結城敦子	栄養士；立松栄次
第二岡本総合病院	2) 検査センター
医師；紀田康雄	株式会社 エスアールエル
栄養士；田川麗子	担当；天勝延寿、山根宏信