

- 7) 体重が標準体重の80%未満の症例。
- 8) 他、担当医が不相当と診断した症例。

2. 方 法

倫理委員会の承認を得た後、選択基準を満たした症例を登録する。前観察期（3ヶ月）は現行の食事（蛋白摂取量1.2 g/kg/day以上）を指導し、この間に通常蛋白食群（蛋白摂取量1.2 g/kg/day以上）と蛋白制限食（蛋白摂取量0.8 g/kg/day）の2群に振り分けを行う。観察期の5年間に、主要解析項目として、Ccrの低下速度、及び1/Crの傾き、血清Crが前値の倍になる症例の頻度、SF-36日本語版を用いたQOLを評価する。さらに、副解析項目として、GFRの低下速度、AERあるいは尿蛋白量、及びCcrの絶対値あるいは変化率を両群で比較検討する。ただし、毎年症例の中間解析を行い、試験の続行・中止に関しても検討する。

C. 研究結果

1) 観察期登録患者

上記の-2および-1ヶ月を終了した全観察期128症例は、データ・センターにて、通常蛋白食A群(1.2 g/kg/day)と蛋白制限食B群(0.8 g/kg/day)の2群に振り分け観察期に入った。観察期の患者数は、2006年1月現在116症例であり、本登録後、中止症例が78症例（A群；31例、B群；47例）、進行中の登録症例4症例（A群；3例、B群；1例）、観察期終了症例34例（A群；24例、B群10例）である。

3) 患者QOL

QOL評価を観察期0ヶ月および、以後1年毎に評価を行い、本研究遂行に関する資料を蓄積している。本登録116例を分母に計算し、観

察開始時72%、1年後48%、2年後40%、3年後39%、4年後23%、5年後25%の回収を行った。

4) 観察期の臨床的特徴

観察期に入った蛋白制限食群および通常蛋白食群の年齢、高血圧の頻度など臨床的特徴に両群間で差はなかった（図1）。

5) 観察期における食事蛋白摂取量

食事調査からの蛋白摂取量は両群間で明らかな有意差を認めなかった（図2）。尿中尿素窒素排泄量から算出した蛋白摂取量にも差が認められた（図3）。

6) 中間解析結果

観察開始後、1年以上経過しており、かつ、尿中UNから算出した蛋白摂取量について、前値1点、観察期2点以上ある症例を対象とした。

①患者背景

性別、高血圧の頻度、年齢、身長、体重、血清Cr、Ccr、尿蛋白量、HbA1cに蛋白制限食群と通常蛋白食群間には差はなかった（表1、2）。

②指示蛋白量の遵守状況

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 $P < 0.05$ と差がみられた（表3、表4）。

③解析項目

Ccrの傾き、1/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（表5、表6、表7）。

7) Independent Study Monitoring Committee 会議議事録

平成18年3月3日に、東京ステーションホテ

ル百合の間にて、午後2時から4時に開催した。

本研究のような「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、日本のみならず世界的に見てもなく、高く評価できる。来年度は、解析結果を、プロトコールに従って全症例に関して行うこと、5年間達成群に関してのみの解析を行うこと、塩分摂取量と腎機能低下の関連の検討も行うよう勧告を受けた。

D. 考 察

中間解析の結果、Ccrの低下速度、及び1/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。しかし、Independent Study Monitoring Committeeからは、未だ世界においてもエビデンスのない分野であり、本臨床研究の成果を報告するよう進言された。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。来年度は、継続症例4例の終了とともに、プロトコールに従った解析を行う。

E. 結 論

「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た。

F. 研究発表

なし

図1. 臨床的特徴

	A群 (蛋白制限食群)	B群 (通常蛋白食群)
男	35例	35例
女	23例	23例
身長 (cm)	160.8(±8.1)	160.9(±7.9)
体重 (kg)	64.0(±10.7)	62.8(±10.4)
尿蛋白 (g/day)	2.6(±2.9)	2.5(±2.5)
Ccr(ml/min/1.73 ²)	87.3(±36.8)	77.8(±34.1)
HbA1C	7.7(±1.5)	7.5(±1.7)
高血圧(有)頻度	82.1%	65.5%

図2. 食事調査からのA、B群の経過

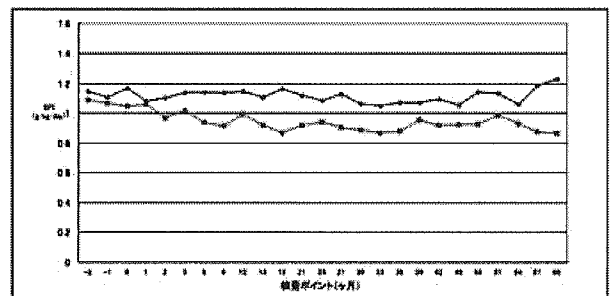


図3. 尿中UNから算出したA、B群の経過

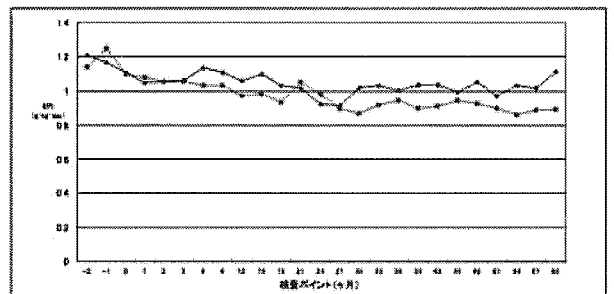


表 1. 性別、高血圧の頻度

項目		A 群	B 群	合計(全群)	χ^2 検定
解析対象例数		48	42	90	
性別	男	30 (62.50)	25 (59.52)	55 (61.11)	p= 0.773
	女	18 (37.50)	17 (40.48)	35 (38.89)	
高血圧の有無	有	31 (64.58)	30 (71.43)	61 (67.78)	p= 0.488
	無	17 (35.42)	12 (28.57)	29 (32.22)	

表 2. 年齢、身長、体重、血清Cr、Ccr、尿蛋白量、HbA1c

項目	要約統計量	A 群	B 群	合計(全群)	Wilcoxon 順位和検定
年齢 (歳)	症例数	48	42	90	p= 0.380
	平均値	57.6	56.2	56.9	
	標準偏差	8.0	8.2	8.1	
身長 (cm)	症例数	48	42	90	p= 0.897
	平均値	160.50	160.60	160.50	
	標準偏差	8.14	7.19	7.67	
体重 (kg)	症例数	48	42	90	p= 0.965
	平均値	63.60	62.30	63.00	
	標準偏差	10.60	10.07	10.31	
血清 Cr (mg/dl)	症例数	48	42	90	p= 0.518
	平均値	0.984	1.040	1.010	
	標準偏差	0.443	0.434	0.437	
Ccr (ml/分/1.73m ²)	症例数	48	42	90	p= 0.348
	平均値	92.23	83.85	88.32	
	標準偏差	38.26	37.85	38.09	
尿蛋白量 (g/日)	症例数	48	42	90	p= 0.704
	平均値	2.295	1.932	2.125	
	標準偏差	2.833	1.690	2.364	
HbA1c (%)	症例数	48	42	90	p= 0.234
	平均値	7.93	7.70	7.82	
	標準偏差	1.52	1.78	1.64	

表 3. 食事調査からの蛋白摂取量

反応変数	説明変数	NDF	DDF	F 値	P 値
食事調査からの蛋白摂取量(EPI)/体重	群	1	156.8	43.80	P=0.000
	時点	21	551.4	0.99	P=0.470

※全時点 (1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45, 48, 51, 54, 57, 60 ヶ月) のデータを使用

表 4. 尿中UNからの蛋白摂取量

反応変数	説明変数	NDF	DDF	F 値	P 値
UN からの蛋白摂取量(EPI)/体重	群	1	214.1	5.05	P=0.026
	時点	21	830.1	2.07	P=0.003

※時点 (1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45, 48, 51, 54, 57, 60 ヶ月) のデータを使用

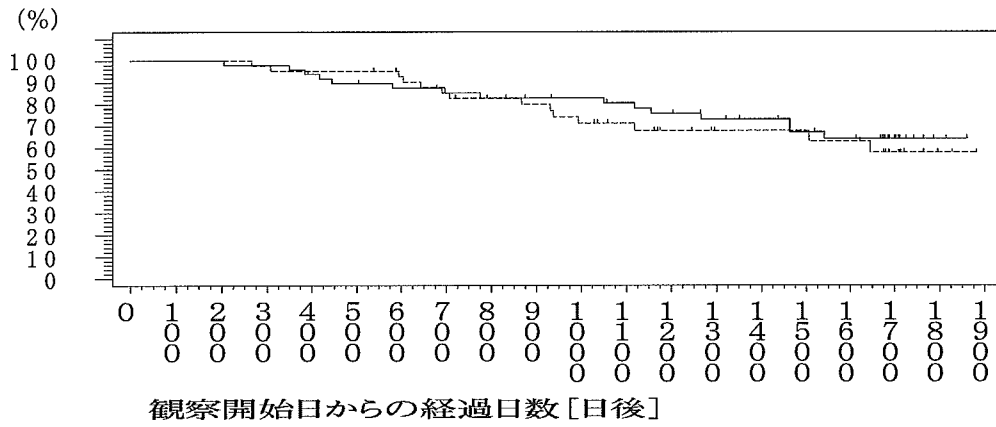
表 5. Ccrの傾き

項目	A 群	B 群	Wilcoxon 順位和検定
測定例数	48	42	Z= -0.093
平均値±標準偏差	-10.056±9.8909	-9.8417±7.6916	P= 0.926
中央値	-8.2020	-8.3686	
最小値, 最大値	-35.297, 18.1402	-30.976, 9.9801	

表 6. 1/Crの傾き

項目	A 群	B 群	Wilcoxon 順位和検定
測定例数	48	42	Z= 0.158
平均値±標準偏差	-0.114734± 0.119992	-0.110528± 0.112912	P= 0.875
中央値	-0.074467	-0.087144	
最小値, 最大値	-0.454684, 0.194304	-0.465405, 0.137403	

表7. 血清Crの倍化日数



A群 —————

B群 - - - - -

Log-Rank 検定 : Chi-Square:0.289、P 値 : 0.591

糖尿病腎症患者の病期進行における血中AGEの関連性の検討

分担研究者 富野 康日己 順天堂大学 腎臓内科教授

研究要旨 上皮細胞におけるReceptor for AGE (RAGE) 産生を確認した。また、AGE (CML) で上皮細胞を刺激したときにおけるMCP-1の遺伝子発現やシグナル伝達経路について検討した。その結果、上皮細胞においてAGE (CML) の刺激はRAGEを介してMCP-1産生を亢進させた。RAGEのシグナル伝達経路においてはROSが中心的役割を果たしていた。またNF- κ BやSp1がMCP-1の転写を制御していた。この結果、AGE (RAGE) とMCP-1のクロストークが糖尿病腎症の発症・進展に関与していることが示唆された。今後のプロジェクトとして、ヒト糖尿病腎症における血中AGE・RAGEを測定し、発症・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。

A. 研究目的

糖尿病腎症は、糖尿病患者の予後決定の重要な因子であり、近年その発症・進展において、MCP-1がマクロファージの誘導をきたし糸球体障害をきたす機序が注目されている。また可溶性receptor for AGE (RAGE) が2型糖尿病腎症モデルマウスのアルブミン尿改善に関与していることが報告されている。これらより、AGE (RAGE) がMCP-1の発現に関与している可能性が示唆される。本研究では、マウス上皮細胞をAGE (CML) で刺激した際におけるMCP-1の発現やシグナル伝達経路などを検討した後、ヒト糖尿病腎症における血中AGE (RAGE) を測定し、血中AGE (RAGE) 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。

B. 研究方法

1. AGE (CML) など上皮細胞を刺激しMCP-1の遺伝子発現をRT-PCRあるいは

ELISAを用い検討を行う。また、RAGE中和抗体やROS阻害薬を用いた時、CMLで上皮細胞を刺激した際に上昇したMCP-1発現がどう変化するかをRT-PCRで確認する。

2. CMLで上皮細胞を刺激したとき時、MAPキナーゼファミリー (ERK1/2、p38 MAPキナーゼ、SAPK) シグナル伝達経路にどのような影響を与えるかをWestern blotで確認する。また、MCP-1遺伝子の転写制御にNF- κ BやSp1が関与しているかどうかを検討する。

C. 研究成果

分化・未分化上皮細胞の両者でRAGEの発現を確認した。MCP-1の発現は、AGE (CML) の刺激により時間・量依存性に増加した。また、その発現はRAGE中和抗体あるいはROS阻害薬であるNAC (N - acetyl - L - cysteine) を用いることにより抑制された。

CMLで誘導されたERKのリン酸化はNAC、Ras阻害薬であるAFCあるいはMEK阻害薬であ

るPD98059により抑制された。しかし、CMLで誘導されたMCP-1の発現はPD98059では一部しか抑制されなかった。

MCP-1遺伝子発現の転写においてはNF- κ BとSp1はCML刺激により上皮細胞の核内にトランスロケーションした。また、NF- κ BとSp1の各々阻害薬であるParthenolideとMithramycin AによりCML誘導性のMCP-1遺伝子発現は抑制された。

D. 考 察

可溶性RAGEは、2型糖尿病腎症モデルであるdb/dbマウスにおいてマクロファージの糸球体への誘導を抑制することを介してアルブミン尿を改善させるという報告や今回の知見より、RAGEがMCP-1の発現に関与している可能性が示唆された。

一般に糖尿病腎症の糸球体にはAGE蛋白とRAGE蛋白の産生亢進がみられることから、AGE (RAGE) が糖尿病腎症発症・進展の原因あるいは早期マーカーになりうる可能性が考えられた。しかし、ヒト糖尿病腎症の発症・進展とAGE (RAGE) の相関については十分に検討されていない。今回の結果をもとに現在、ヒト糖尿病腎症の各病期における血中AGE (RAGE) を測定し、腎症進行の程度と血中AGE (RAGE) 値との相関をみることにより、血中AGE (RAGE) が糖尿病腎症発症・進展の早期マーカーになりうるか否かについて検討している。

E. 結 論

上皮細胞においてAGE (CML) の刺激はRAGEを介してMCP-1産生を亢進させた。尿中MCP-1は尿中アルブミンの程度と相関することより、MCP-1の発現を減少させることやその産生刺激となるAGE (RAGE) を減少させることが糖尿病腎症の発症・進展抑制に重要であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Tomino Y, Tsuge T, Suzuki Y, et al: Basic research in progressive glomerulopathies: the role of fibrosing factors in IgA nephropathy and diabetic nephropathy. *Kidney Int. Suppl* S92-95, 2005

Gu L, Hagiwara S, Fan Q, et al; Role of receptor for advanced glycation end-products and signaling events in advanced glycation end-product induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in differentiated mouse podocytes. *Nephrol Dial Transplant* 21: 299-313, 2006

2. 学会発表

平成16年6月 国際腎臓学会会議2004腎疾患の進行予防に関するカンファレンスで招請講演

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 本研究の集約的治療群における血圧目標値は、従来療法群のそれより低く設定してある。その達成率を良好にするために家庭血圧（HBP）も測定し、外来血圧（CBP）との比較、早朝高血圧の有無と糖尿病性腎症との関係などを検討する。HBPとCBPとの関係には不明の点があり、各疾患におけるHBPの目標値は確立しているわけではない。

若年者軽症高血圧患者においてHBPとCBPとの関係を検討したところ、HBPはCBPと比較して、収縮期血圧では約30mmHg低値であったが、拡張期血圧では差がなかった。朝のHBPの収縮期血圧は、125～130 mmHgが適正な血圧値と考えられる。

A. 研究目的

家庭血圧（HBP）と外来血圧（CBP）との関係を検討する。

B. 研究方法

若年者軽症高血圧患者13例（男性11例、女性2例）において、家庭血圧計を用いてHBPを朝と夜の1日2回、6日間連続して測定し、CBPとの関係を検討した。なお、測定は日本高血圧学会のガイドライン2004（JSH2004）に従って実施し、降圧薬は全例で使用していない。

C. 研究結果

収縮期血圧については、CBPは 162.6 ± 10.3 mmHg、翌朝のHBPは 132.5 ± 15.5 mmHgで、CBPとHBPとの間に有意差（ $p < 0.01$ ）を認めた。なお、翌夜のHBPは 133.5 ± 12.6 mmHgで、朝のHBPとの間には差がなかった（図1）。

拡張期血圧については、CBPは 90.6 ± 10.0

mmHg、翌朝のHBPは 84.0 ± 11.8 mmHg、翌夜のHBPは 83.4 ± 9.5 mmHgで、CBPとHBPとの間、および朝と夜のHBPの間にも差がなかった（図1）。

また、連日測定したHBPにおいて、朝と夜ともに、収縮期および拡張期血圧に差がなかった（図2）。

図1. CBPとHBPとの関係

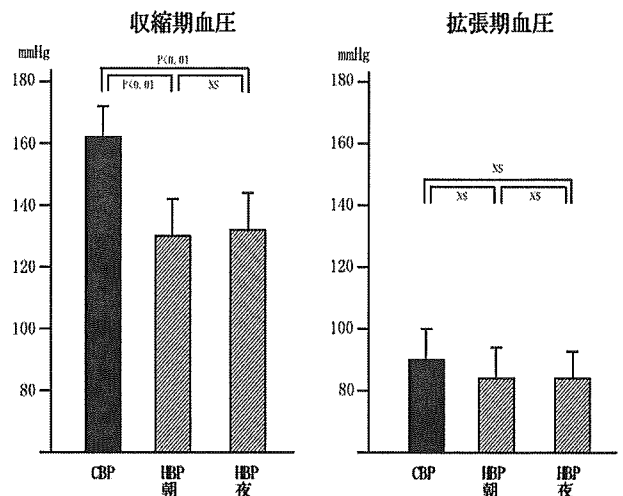
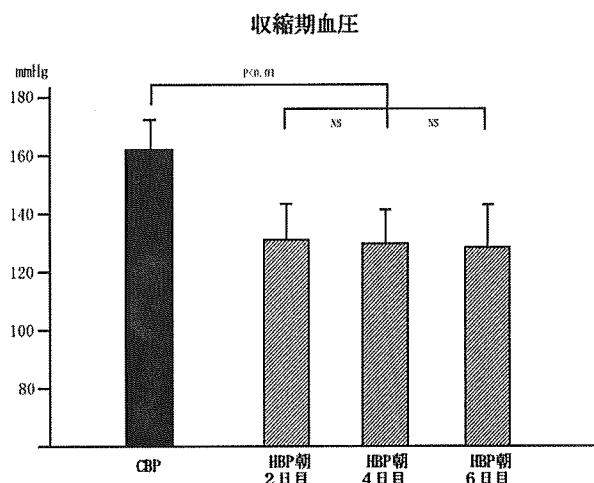


図2. HBPの測定回数との関係



D. 考 察

今回の検討から、軽症高血圧患者のHBPの収縮期血圧は、CBPと比較して約30mmHg低値で、平均132.5 mmHgであった。JSH2004では、朝のHBPによる高血圧の定義は135/85 mmHg以上で、正常血圧の定義は125/75 mmHg未満である。以上から、朝のHBPの収縮期血圧が130 mmHg以上は明らかに高値で、125~130 mmHgが適正な目標値と考えられる。

糖尿病性腎症患者におけるCBPおよび朝のHBPの目標値は確立していないため、本研究の一つの重要な課題であり、多数の症例で検討する必要がある。なお、HBPは測定回数による変動は少ないと思われる。

E. 結 論

HBPはCBPと比較して、収縮期血圧は約30mmHg低値で、その収縮期血圧で125~130 mmHgが、良好な管理の一つの目安と考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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

「糖尿病性腎症に対する食事蛋白制限に伴う各栄養素の変化と
臨床パラメーターとの関連性」

主任研究者	山田 研一	国立千葉東病院臨床研究センター
分担研究者	多田 純子	国立千葉東病院
	鈴木 洋一	千葉大学大学院公衆衛生学
	松田 利恵子	国立千葉東病院
	宮内 真弓	国立千葉東病院栄養管理室
	古家 大祐	滋賀医科大学第三内科
	永妻 光義	イーピーエス株式会社
	加藤 由佳	イーピーエス株式会社
	勝又 千春	イーピーエス株式会社
	羽田 勝計	旭川医大第二内科
	吉川 隆一	滋賀医大

研究要旨 日本人2型糖尿病性顕性腎症に対する、蛋白制限食の有効性について、多施設共同研究によるランダムイズコントロール（RCT）された、5年間の検証研究がなされた。前観察期（蛋白摂取1.2g/kg/day以上）の3ヶ月後、蛋白制限食（A）群（蛋白指示量；0.8g/kg/day）と通常蛋白食（B）群（蛋白指示量；1.2g/kg/day）の2群にRCTされ、観察期として5年間followされた。本研究では、観察期24ヶ月までの症例を対象とした。調査ポイントは、前観察期として-2、-1、0ヶ月及び観察期として3、6、12、24ヶ月目とした。平均を算出し解析した。A群：47例、B群：46例であった。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。A群とB群を合わせた全症例での栄養素と臨床データ（24時間蓄尿、採血）の前観察期から観察期の変化量について、関連性を検討した。エネルギー、蛋白質、糖質、脂質、ビタミンE, B1, B6、葉酸摂取は（体表面積補正した）Ccrと正の相関があった。またA群に日本人の食事摂取基準（2005年版）に満たない栄養素（カルシウム、ビタミンE, B1, B6）が多かった。これらは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。

A. 研究目的

「糖尿病性腎症に対する包括的治療法の確立」
を目指し、「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開始・継続してきた。
本邦における糖尿病性腎症の食事療法として、蛋白制限食が推奨されてきた。しかし、そ

の有効性については単一施設での報告のみであり、十分なEBMとしての地位は得ていない。今回、日本人2型糖尿病性顕性腎症に対する多施設共同研究による、ランダムイズコントロール（RCT）された、5年間の蛋白制限食の有効性の検証研究がなされた。独立委員会の承認許可のもと、キーオープンとともに中間報告がなされた。

本研究は、本邦で比較的積極的に糖尿病性腎症を診療している施設の医師と栄養士の協力により構成されている。当研究において、そのような施設で実際に蛋白制限食を食事療法として行った場合、蛋白以外の各栄養素摂取量にどのような変化が出現するのか、また、蛋白制限食群と通常蛋白食群との間に、蛋白以外の各栄養素摂取量に違いが認められるのか、またその栄養素と臨床検査成績とにどのような関連があるのか、更に日本人の食事摂取基準（2005年版）を満たしているのかを検討した。

今回の検討は、糖尿病性腎症の進展因子の一つと考えられている、「酸化ストレス」に関連する栄養素摂取量の動態を中心に検討した。このような検討により、糖尿病性腎症に対する包括的治療の一環としての、新たな食事療法指導法の確立を目指していくべきと考えられる。

B. 研究方法

1. 対象：

選択基準：①2型糖尿病で、登録時65歳未満、5年以上の糖尿病罹病期間（推定）を有する。②糖尿病性腎症第3期である。③糖尿病性網膜症（SDR以上）を有する。（但し、腎生検で腎症が診断されている症例では、糖尿病の罹病期間5年未満でもあるいは網膜症を有さなくても良い。）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idealBW（身長²*22）。⑤文書同意が得られた症例。

除外基準：①1型糖尿病。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。④ACE阻害剤あるいはアンギオテンシンⅡ受容体拮抗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。（担当医が不適当と判断した症例。

2. 方法：

蛋白制限食群：蛋白摂取指示量；0.8g/kg/day（A群）と通常蛋白食群：蛋白摂取指示量；1.2g/kg/day（B群）の2群にランダム化により割付けする。該当症例を登録し、前観察期（3ヶ月）の後、観察期として24ヶ月目までを今回の解析対象とした。対象症例数はA群：47例、B群：46例であった。前観察期は、蛋白摂取量1.2g/kg/day以上の食事を指導し、この間に2群の割付けを行った。観察期の食事について、蛋白摂取指示量はA群が0.8g/kg/day、B群は1.2g/kg/dayである。エネルギー摂取量は、両群ともに前観察期の指示を継続（但し、A群では血清脂質に変動が生じないように配慮し、エネルギー不足と担当医が判断した場合は、研究代表者と協議の上、エネルギーを増加することができる）。塩分摂取量は、両群ともに前観察期の指示を継続（但し、高血圧併発時には適正

な指導を行う)。調査ポイントは、前観察期として観察期2, 1, 0ヶ月前、観察期として3, 6, 12, 24ヶ月目とした。各調査ポイント時に3日間の食事調査(検証の為の食事前後の写真撮影を含む)、24時間蓄尿、空腹時採血を行った。

3. 観察項目:

1) 栄養摂取量(5訂食品成分表使用): エネルギー、蛋白質、塩分、糖質、脂質、ビタミンC、ビタミンE、ビタミンB₁、ビタミンB₆、カロテン、カルシウム、葉酸。

2) 24時間蓄尿: 総蛋白(TP)、Alb、Na、Ca、Ccr、EPI(UNから算出した蛋白摂取量)。

3) 空腹時採血: Cr、HbA1c、TP、Alb、Lipid(TC、TG、HDL-C)、Apoprotein、Transferrinを測定。

4. 解析方法:

調査ポイント毎に収集したデータから、前観察期及び観察期で、各々平均値を算出した。差の検定はT検定、相関関係はPearsonの相関係数を求めて解析を行った。

C. 結果

今回は前観察期3ヶ月及び観察期(蛋白制限食(A)群又は通常蛋白食(B)群)24ヶ月の期間の検討を行った。

食事摂取調査からは、前観察期では、A群とB群の食事蛋白摂取量に有意差を認めなかった。観察期のA群の摂取蛋白量は0.92g/kg、B群の摂取蛋白量は1.11g/kgで、有意差を認め、食事調査上からは、指導が的確に行われたと推察される。

①A群とB群合わせた全症例(24ヶ月データ有りのみ)での栄養素と臨床データ(24時間蓄

尿、採血)の前観察期から観察期の変化量について、関連性を検討した。(体表面積補正した)Ccr変化値はエネルギー($r=0.384$, $p=0.006$)、蛋白質($r=0.349$, $p=0.013$)、糖質($r=0.351$, $p=0.012$)、脂質($r=0.329$, $p=0.02$)、ビタミンE($r=0.311$, $p=0.028$)、ビタミンB₁($r=0.332$, $p=0.019$)、ビタミンB₆($r=0.430$, $p=0.002$)、葉酸($r=0.314$, $p=0.027$)において有意な正の相関をみとめた。

②臨床データについて、前観察期から観察期の変化量におけるA群とB群間の比較を行った。(体表面積補正した)Ccr変化値では有意差をみとめなかったものの、A群はB群に比較し変化量が大きかった。

③各栄養素の摂取量を、日本人の食事摂取基準(2005年版)から検討すると、蛋白制限食(A)群では特に、カルシウム、ビタミンE、B₁、B₆の摂取量は、推奨量(RDA)、目安量(AI)、及び目標量(DG)に満たなかった。

D. 考察

今回栄養素と臨床データ(24時間蓄尿、採血)の前観察期から観察期の変化量の相関解析では、(体表面積補正した)Ccr変化値はエネルギー、蛋白質、糖質、脂質、ビタミンE、B₁、B₆、葉酸の摂取と正の関連性があることが判明し、これらの摂取の重要性が確認された。

今回の成績で驚くことに、A群(蛋白摂取指示量; 0.8g/kg/day)とB群(蛋白摂取指示量; 1.2g/kg/day)での、(体表面積補正した)Ccr変化量の差の検定で、有意な違いは見られなかったものの、A群はB群に比較して変化量が大きかったことである。これには蛋白質以外にも他の栄養素が影響していることが考えられるが、今回の解析でCcrと関連した栄養素につ

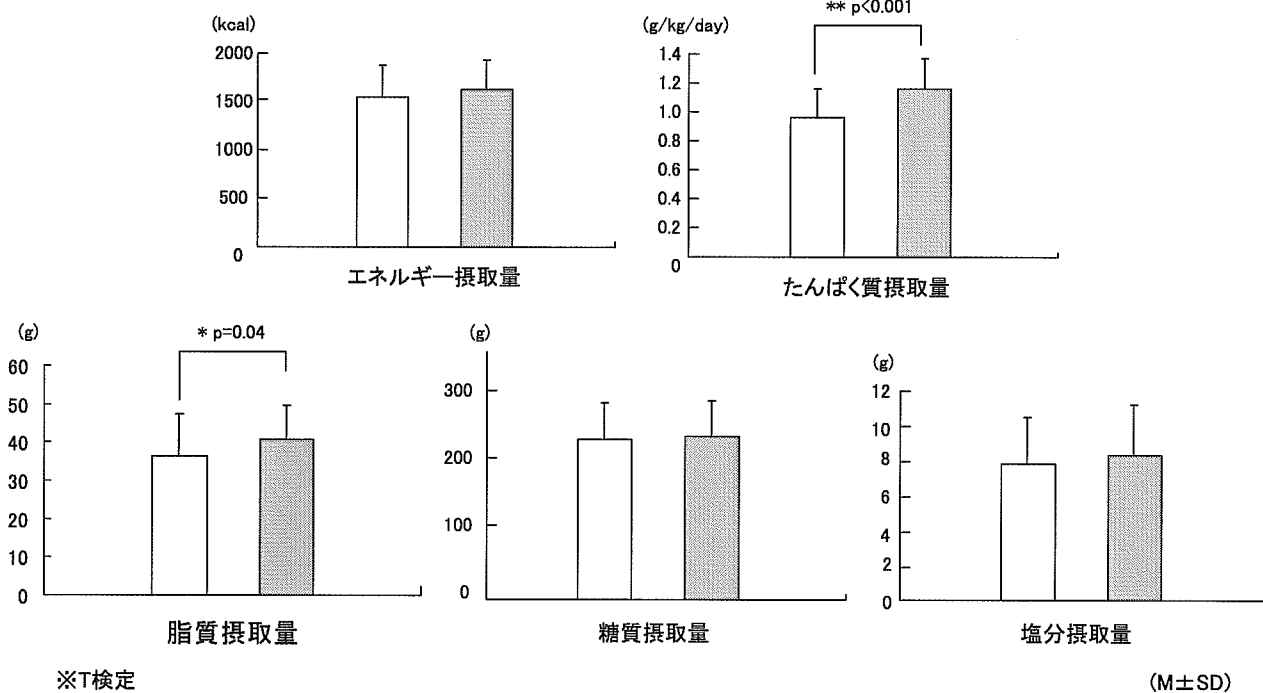
いては、今後の糖尿病性腎症における低蛋白食の効果を検討する上で、重要なファクターとなりうることが示唆された。

食事調査よりの栄養素摂取研究は重要である

にも関わらず、方法論や解析方法（交絡因子の関与）にも問題があり、今後の新展開が必要である。

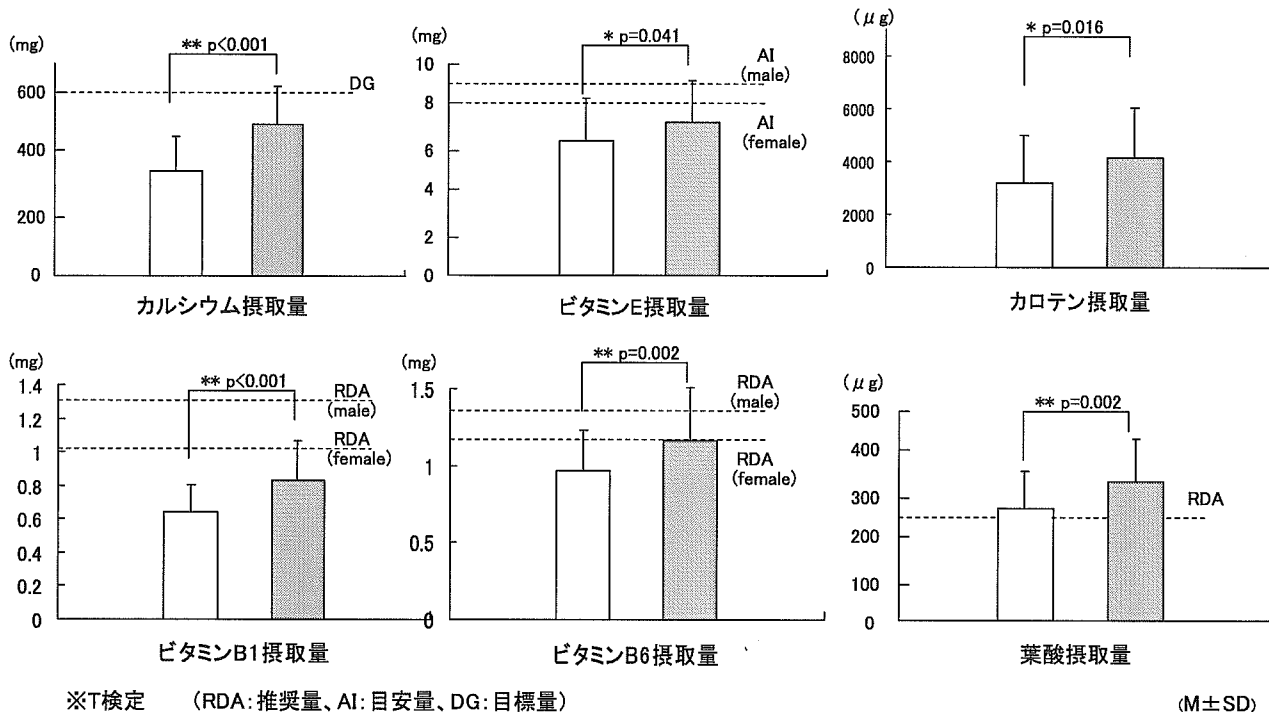
観察期のA群とB群の比較

□ A群 (蛋白制限食群 0.8g/kg/day), n=47 ■ B群 (通常蛋白食群 1.2g/kg/day), n=46



観察期のA群とB群の比較

□ A群 (蛋白制限食群 0.8g/kg/day), n=47 ■ B群 (通常蛋白食群 1.2g/kg/day), n=46



厚生労働省科学研究費補助金（循環器疾患等総合研究事業）
分担研究報告書

治療の効果評価に必要な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

研究要旨 本年度は、治療効果の要因分析の統計学的手法について研究プロトコルに沿って具体的に検討を進めた。エンドポイントが各測定時点の連続量である場合には、反復測定分散分析を利用することで、多重検定の問題を防止しながら治療効果に関する結論を得ることができると考えられた。エンドポイントがイベントである場合には、イベントの発生率を2群で比較する方法と、生命表を利用する方法があるが、脱落や観察打ち切り例の発生は避けることができないため、生命表解析を利用することが適切であると考えた。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については、時間依存変数を用いたCox比例ハザード分析をもとに解析のためのSASプログラムを作成し、hierarchical regressionの手法を合わせて使用すれば、中間指標が治療効果をどの程度説明できるかを評価できることを示した。本年度研究により、治療効果解析のための生物統計学的方法論が準備できた。これらの解析において欠損値をどう扱うかについて検討が必要である。

A. はじめに

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、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。

初年度の平成16年度はまず集約治療のエンドポイントに対する治療効果評価に必要な症例数について算定した。また血圧、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について検討し、Brennerら（2001）の使用した時間依存変数を用いたCox比例ハザード分析が適切と考えた。

本年度は昨年度の研究成果をもとに、本介入研究における治療効果評価に必要な生物統計解析手法についてさらに検討を進めるため、介入プロトコルに沿って具体的な生物統計解析手法の選択および応用について検討した。

B. 対象と方法

1. 研究プロトコルの概要

本研究では介入前の臨床状態によって患者を2群に分け、それぞれに対してプロトコルAあるいはBに従って無作為化比較試験を実施する。以下にそれぞれのプロトコルの概要を示す。

1) プロトコルA

尿中アルブミン排泄量 $>300\text{mg/day}$ かつ血清クレアチニン値 $<1.2\text{mg/dL}$ の顕性腎症を有する糖尿病患者を対象に、集約的治療法と従来療法に無作為に割付、集約的治療法における腎症の進行阻止を検討する。

主要評価項目は、尿中蛋白排泄量（早朝第一尿におけるクレアチン補正尿蛋白）、副次的評価項目は1) クレアチンクリアランス、2) 心血管イベント、3) 網膜症の進展である。評価時期は介入開始後3～60ヶ月後までの3ヶ月ごとである。

2) プロトコルB

顕性腎症（尿中アルブミン排泄量 $>300\text{mg/day}$ かつ $1.2\text{mg/dL} \leq$ 血清クレアチニン値 $\leq 2.5\text{mg/dL}$ ）を有する糖尿病患者を対象に、集約的治療法と従来療法に無作為に割付、集約的治療法における腎症の進行阻止を検討する。

主要評価項目は、血清クレアチニン値の2倍化、透析療法への導入または腎移植、死亡の複合エンドポイントである。副次的評価項目は1) 心血管イベント、2) 網膜症の進展である。評価時期は介入開始後3～60ヶ月後までの3ヶ月ごとである。

2. 必要とされる生物統計解析手法

エンドポイントの測定水準（連続量か離散量か）によって選択される生物統計解析手法が異なる。また目的が集約的治療群と従来療法群の

二群の比較であるのか、中間指標がエンドポイントに与える影響の大きさを評価する点にあるのかで選択される生物統計解析手法が異なる。さらに、無作為化している場合でも性別、年齢、介入開始時点での病期などの主要な要因を調整して解析を行う場合もある。このような場合にはこれらの共変量を生物統計解析手法の中で調整することが求められる場合もある。本研究では以下の場合に分けて使用すべき生物統計解析手法について整理する。

1) エンドポイントが連続量の場合

エンドポイントの指標が尿中蛋白排泄量などのように連続量の場合、集約的治療群と従来療法群の二群の間で、エンドポイント指標がおおよそ正規分布しているという仮定の下で、その平均値を比較・検定することができる。この場合、各測定時点でエンドポイントを比較する方法と、複数の測定時点におけるエンドポイントを一括して比較する方法とがある。またこれらの解析方法の中で共変量を調整することが可能である。

2) エンドポイントが二値の場合

エンドポイントが、血清クレアチニン値の2倍化、透析療法への導入または腎移植、死亡のいずれかで判断される複合エンドポイントや、心血管イベントのように発生か非発生かで評価される二値の指標である場合、各群における発生率を比較する方法（ χ^2 二乗検定など）と、脱落や観察打ち切りを考慮した生命表分析を使用する方法の2つがある。これらの解析方法の中で共変量を調整することが可能である。

3) 中間指標とエンドポイントとの関連の解析

昨年度研究では、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文献的検討を行った。その結果、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。しかしこの方法では、最終の中間指標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であった。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解析が可能と考えられた（図1）。本研究ではこれに対応する解析計画を具体的に検討した。

C. 結 果

1. エンドポイントが連続量の場合

1) t検定または一元配置分散分析

エンドポイント指標を、各測定時点で二群間で比較する統計手法としては、t検定（対応のない）、一元配置分散分析などがある。エンドポイント指標が正規分布するという仮定が成立しない場合やはずれ値がある場合にはパワーは低下するがノンパラメトリック検定（Mann-Whitney U検定等）を利用することができる。エンドポイント指標がほぼ正規分布する場合、共変量を調整した解析のためには分散分析ある

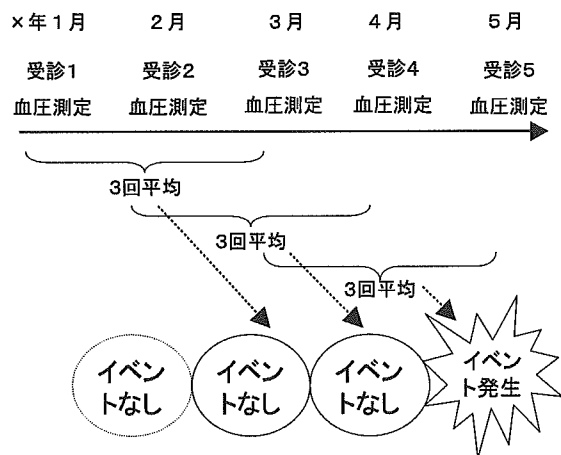


図1 時間依存変数を用いた中間指標（血圧を例）のエンドポイント発生イベントへの影響の解析イメージ。この症例では、1～3月の平均血圧はイベントなしと関係、2～4月の平均血圧もイベントなしと関係、3～5月の平均血圧がイベントと関係している。

いは共分散分析が利用できる。また各測定時点での二群の差の検定を実施すると多重比較となりp値が0.05よりも甘くなるためこれを補正して検定を行うために多重比較法（Dunnettの方法など）を使用することができる。

2) 反復測定分散分析

一方、研究者の関心は個々の測定時点における二群間の差ではなく、観察期間中を通しての二群間の差であることが多い。このために反復測定分散分析が利用できる。反復測定分散分析では、複数の観察期間におけるエンドポイント値の二群間の差を一括して検定することができ、検定回数を制限することで多重比較の問題を避けることもできる。以下に反復測定分散分析を用いた場合のSASプログラムの例を示す。

```
反復測定分散分析を用いた場合のSASプログラムの例
treatment: 1=集約的治療群、0=従来療法群
ept0, ept1 ... : t0 (介入前), t1 (3ヶ月後) ...
におけるエンドポイント (例、尿中蛋白排泄量)
```

の値

データ構造：

```
caseid  treatment  ept0  ept1  .....  ept20
    1      1      20   22  .....
    2      1      25   23  .....
    3      0      17   20  .....

proc glm;
class treatment;
model ept0 ept1 ... ept20 = treatment / nouni;
repeated time 21;
run;
```

2. エンドポイントが二値の場合

1) イベント発生率の比較

(1) χ^2 二乗検定またはFisherの直接確率法

二群間におけるイベント発生率の単純比較には、 χ^2 二乗検定またはFisherの直接確率法が使用できる。 χ^2 二乗検定が χ^2 二乗分布による近似推定に基づいた検定であるのに対し、Fisherの直接確率法は二項分布に基づいた正確な検定であるため、コンピュータの解析能力が増大した近年はこちらがよく使用されるようになっている。

(2) 共変量の調整

イベント発生率の比較において、性別、年齢、病期などの共変量を調整して二群の間で発生率に差があるかどうかを検定したいという場合がある。これまではしばしば、多重ロジスティック回帰分析が使用されてきた。しかしイベント発生率が10%以上など比較的高い場合には、多重ロジスティックによるリスク比の推定は不正確になることが指摘されている。このため、最近では多重ロジスティック回帰分析に代えて、

二項 (binomial) 回帰やポワソン (Poisson) 回帰などの解析手法を使用することが推奨されている (Spiegelman & Hertzmark, 2005)。以下に、性別、年齢を調整した場合のこれらの解析に対するSASプログラムの例を示す。

二項回帰やポワソン回帰のSASプログラムの例

① log-binomial regressionを利用した場合

```
proc genmod descending;
model event=treatment sex age / dist=bin
link=log;
estimate 'RR intensive treatment vs. treatment
as usual' treatment 1/exp;
```

② ポワソン回帰を利用した場合

```
proc genmod;
class id;
model event=treatment sex age / dist=poisson
link=log;
repeated subject=id/type=ind;
estimate 'RR intensive treatment vs. treatment
as usual' treatment 1/exp;
```

二項回帰はしばしば数学的に解が不安定であり、その場合にはポワソン回帰が用いられる。しかし理論的には二項回帰の方が明確な数学的仮定を有している。

2) 生命表分析

観察期間中には、エンドポイントとしたイベント以外にも、観察を中断せざるを得ない場合が生じる。例えば、対象患者の転居による治療中断、治療プロトコル遵守の低さによる除外 (P P T解析の場合) などである。生命表分析では、こうした患者でも中断するまでのデータを解析に活かすことができる。共変量を調整する場合にはCox比例ハザード解析が用いられる。

3. 中間指標とエンドポイントとの関連の解析

時間依存変数を使用した解析を利用して、中間指標とエンドポイントとの関連、さらに中間指標が治療とエンドポイントとの関連をどの程度説明しているか評価する方法について検討する。

時間依存変数を使用した解析では、解析内で新しく変数を定義し、これが時間により変化する（各測定時点ごとの値を代入される）とすればよい。時間依存変数を使用した解析Cox比例ハザード解析のSASプログラムの例は以下のようになる。

時間依存変数を使用した解析Cox比例ハザード解析のSASプログラムの例

treatment: 1=集約的治療群、0=従来療法群
 mt0, mt1 : t0 (介入前), t1 (3ヶ月後) ... における中間指標 (例、血圧) の値
 event: 1=イベントあり、0=イベントなし
 month: 最終観察時点あるいはイベントありまでの月数

データ構造:

id	treatment	m0	m1	m20	event	month
1	1	20	22	40	1	60
2	1	25	23	1	27
3	0	17	20	0	18

```
proc phreg;
model month*event(1)=treatment sex age med;
if 0<month<3 then med=m0;
if 3<=month<6 then med=m1;
.....
if 57<=month<60 then med=m19;
run;
```

上記の例ではイベント直前の測定値がイベントに影響するという仮定に基づいている。イベント前3回の中間指標の測定値がイベントに影響するという仮定 (図1) の下では、SASプログラムは以下のようになる。

```
proc phreg;
model month*event(1)=treatment sex age med;
if 0<month<3 then med=m0;
if 3<=month<6 then med= average(m0,m1);
if 6<=month<9 then med=average(m0,m1,m2);
.....
if 57<=month<60 then med= average
(m17,m18,m19);
run;
```

これまでの解析では、中間指標である例えば血圧がイベントに影響したかどうかを検定し、またそのリスク比の大きさを推定できる。しかし研究者の関心は中間指標により治療の別とイベントとの関係がどの程度説明できるかにある。これを評価するためにはhierarchical regressionという手法を用いるとよい。

Hierarchical regressionではまず、治療の種類 (treatment) と変化しない共変量 (sex, age) を入れたモデルで解析を行い、治療の種別によるイベント発生のリスク比を推定する。ついで上記のように中間指標 (med) を加えたモデルで解析を行い治療の種別によるイベント発生のリスク比を推定する。この中間指標調整前のリスク比と調整後のリスク比を比較することで中間指標の関与の大きさが評価できる。例えば中間指標調整前には集約治療によるイベント発生のリスク比は0.6 (イベントの発生を6割に抑制) であり、中間指標調整後にはリスク比が0.9 (イベントの発生を9割に抑制) に増加していれば、中間指標によって集約治療の効果が

83% $[(1/0.6-1/0.9-2) / (1/0.6-1)]=0.83]$ で説明できると推定できる。

D. 考 察

本年度は、治療効果の要因分析の統計学的手法について研究プロトコルに沿って具体的に検討を進めた。エンドポイントが各測定時点の連続量である場合には、反復測定分散分析が利用できる。反復測定分散分析は、多重検定の問題に対する解決の1つでもある。多重検定問題を解決する方法のもう1つとして、最終観察時点のエンドポイントしか比較しないという方法もある。

反復測定分散分析を利用することの問題点は、測定値に欠損値があればその患者のデータは全て使用できなくなるという点である。この点については近年、欠損値をその前の測定値、あるいは悪化したと仮定した値などで補完する方法などが提案されている。いくつかの欠損値補完の方法を使用して解析を行い、結果の頑健性を確かめるsensitivity analysisを行うことが考えられる。

エンドポイントがイベントである場合には、イベントの発生率を2群で比較する方法と、生命表を利用する方法がある。脱落や観察打ち切り例の発生は避けることができないため、生命表あるいはCox比例ハザード解析などを利用することが適切であると考えられる。

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については、Brennerら（2001）の使用した時間依存変数を用いたCox比例ハザード分析および、エンドポイント発生前の3回の中間指標の平均測定値を予測に用いることを考慮した

Cox比例ハザード分析に従い解析のためのSASプログラムを試作した。またhierarchical regressionの手法を合わせて使用すれば、中間指標が治療効果をどの程度説明できるかを評価できることを示した。時間依存変数を用いたCox比例ハザード分析を利用した方法の問題点は、中間指標の測定値に欠損値のあった場合である。これに関しては、その前の測定値を使用する、3回でなく2回の平均値を利用するなどの対策が考えられる。しかしこのいずれの方法が欠損値の補完に適切であるかは理論的には明確でなく、実際のデータにおけるsensitivity analysisによって探索的に確かめる必要がある。

本年度研究により、治療効果解析のための生物統計学的方法論が準備できた。しかし上で述べたように欠損値をどう扱うかについてさらに検討が必要と考える。

E. 結 論

本年度は、治療効果の要因分析の統計学的手法について研究プロトコルに沿って具体的に検討を進めた。エンドポイントが各測定時点の連続量である場合には、反復測定分散分析を利用することで、多重検定の問題を防止しながら治療効果に関する結論を得ることができると考えられた。エンドポイントがイベントである場合には、イベントの発生率を2群で比較する方法と、生命表を利用する方法があるが、脱落や観察打ち切り例の発生は避けることができないため、生命表解析を利用することが適切であると考えた。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については、時間依存変数を用いたCox比例ハザード分析をもとに解析のための