

表 1 免疫抑制薬による副作用および併発症

一般名	腎毒性	高血圧	高脂血症	糖尿病 (PTDM*)	胃腸障害 (下痢・腹痛など)	その他
シクロスポリン	+++	+++	++	++	+	神経毒性(振戦など), 多毛, 歯肉肥厚, リンパ増殖症状など
タクロリムス	+++~++	++	++~+	+++	+	神経毒性(振戦など), リンパ増殖症状など
ステロイド薬		++	++	+++		大腿骨頭壊死, 白内障・緑内障, 消化性潰瘍など
アザチオプリン					+	骨髄機能抑制, 肝障害, 脱毛など
ミゾリピン					+	骨髄機能抑制, 肝障害, 脱毛など
ミコフェノール酸モフェチル					+++	骨髄機能抑制など

*PTDM: post-transplant diabetes mellitus 移植後糖尿病

(文献 3 より引用, 一部改変)

表 2 免疫抑制薬の種類と心血管リスクファクター

Combination	高血圧	糖尿病	脂質異常症
アザチオプリン+プレドニン	+	+	+
アザチオプリン+プレドニン+シクロスポリン	+++	++	+++
MMF+プレドニン+シクロスポリン	+++	++	+++
アザチオプリン+プレドニン+タクロリムス	++	+++	++
MMF+プレドニン+タクロリムス	++	++	+
MMF+プレドニン+シロリムス	+	+	+++

MMF: ミコフェノール酸モフェチル, +: least association, +++: greatest association

ロスボリンの導入後, 高血圧の頻度がそれまでの 40~50% から 80%前後へと増加したことから, CNI の影響が大きいと推測される。CNI でもタクロリムスは血圧に対する影響が少ないとされている。その機序としては, CNI によるレニン-アンジオテンシン系亢進, 交感神経活性亢進などによる全身血管抵抗増加, また腎局所では輸入細動脈優位の収縮などが関与するものと想定されている。また, シクロスポリンには尿細管レベルでの Na 再吸収亢進作用も示唆されており, 体液過剰に傾けることで血圧上昇をきたす可能性も考えられる⁵⁾。

脂質異常症

脂質異常症は移植後に高頻度に認められる。維持透析中の脂質異常から移植後の脂質異常ではパターンの変化があることが指摘されている。腎不全患者においてはトリグリセライドの増加, HDL コレステロールの減少が生じる。腎移植患者においては, 主に LDL の増加により総コレステロールが増加し⁶⁾, 酸化 LDL も増加している⁷⁾。HDL コレステロールは通常正常か高値であるが, HDL₂分画中のコレ

ステロール濃度は減少しており, HDL の冠血管保護効果は乏しいとされる⁸⁾。

脂質異常の成因は多因子であり, 食事, 免疫抑制薬などの薬剤, 糖尿病, 蛋白尿などが関与している。多くの腎移植患者は移植術後に透析中の食事制限から解放され体重が増加する。脂質異常症を生じる免疫抑制薬としてステロイドとシクロスポリンが重要である。ステロイドやシクロスポリンなどの免疫抑制薬による高脂血症発生のメカニズムは図 2 のように考えられている⁶⁾。シクロスポリンは胆汁酸合成経路に重要な役割を果たしている 26-hydroxylase を阻害し, 胆汁酸の合成を減らすことにより, コレステロールの腸管への輸送を阻害する。また LDL 受容体と結合し, 血清 LDL コレステロール値を増加させる。さらに hepatic lipase 活性を増強し, lipoprotein lipase 活性を減らすことにより VLDL と LDL が上昇する。

ステロイドは体重増加をきたし, インスリン抵抗性を惹起し, 肝での VLDL 合成を促進し, コレステロールとトリグリセライドを増加させる。また acetyl-CoA carboxylase と free fatty acid synthetase の活性を高め, VLDL の肝での合成を増加し, LDL 受容体を down regulate する。さらに

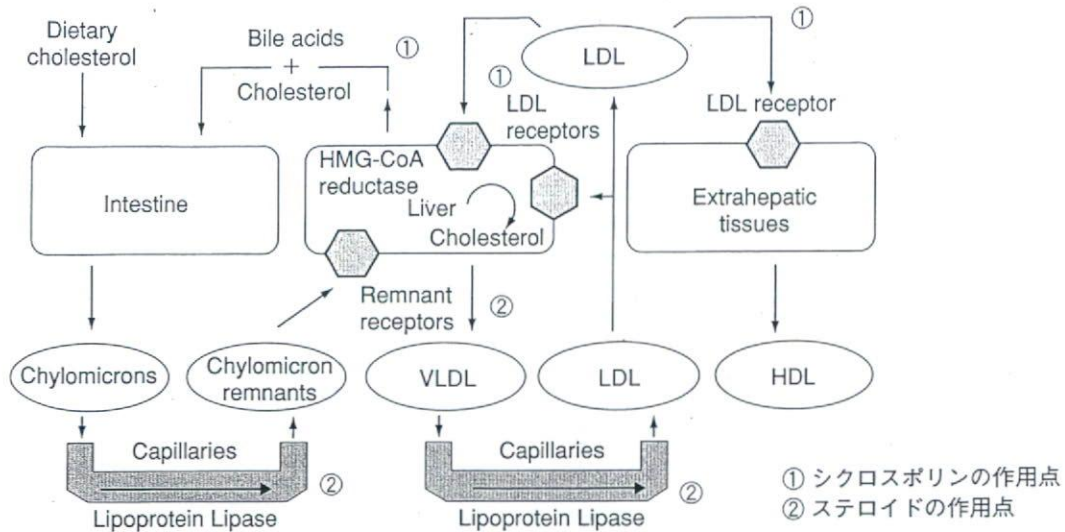


図 2 外因性経路

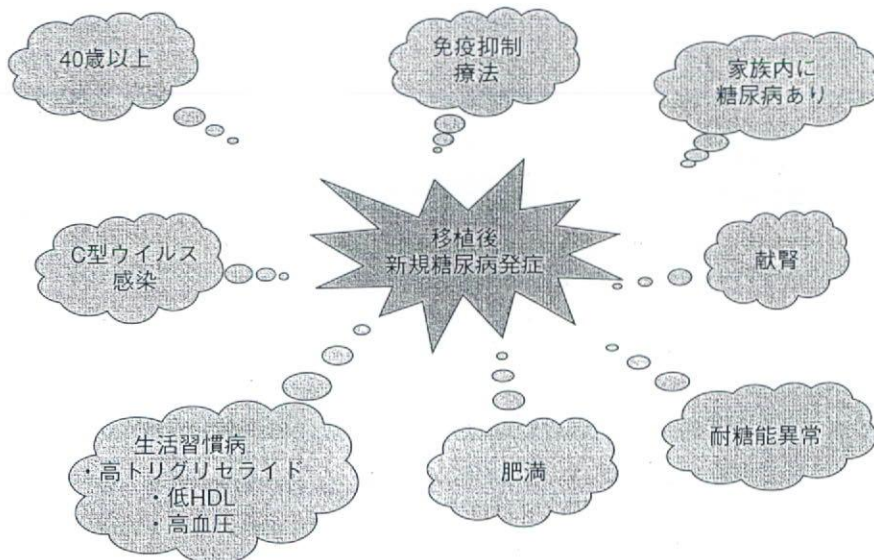


図 3 移植後新規発症糖尿病のリスクファクター

HMG-CoA 還元酵素の活性を増加し lipoprotein lipase を阻害する^{9,10)}。この結果、総コレステロール、トリグリセライド、VLDL は増加し、HDL は減少する。移植後免疫抑制でプレドニンの有無の影響を検討した報告では、プレドニン使用群での脂質異常(LDL>100 mg/dL)の出現頻度は50%で、プレドニン不使用群の30%と比較して有意に大きかった¹¹⁾。

また、わが国ではいまだ使用が認められていないが欧米で移植後の免疫抑制に用いられるラパマイシンでも、中性脂肪、総コレステロール値の上昇が知られている¹²⁾。

耐糖能異常・糖尿病

腎移植後発症の糖尿病(PTDM)は腎移植後の長期管理のなかで、長期成着、長期生存に悪影響を及ぼすものとして注目されている。その発症危険因子は多因子であり(図3)¹³⁾、肥満、年齢(>40歳)、糖尿病家族歴、耐糖能異常、メタボリックシンドロームなど、非移植患者での2型糖尿病危険因子に加えて、移植患者に特有な因子として免疫抑制薬使用があり、また最近、移植前C型肝炎の存在が発症と強く関係することが示され注目を集めた。ここでは免疫抑制薬と耐糖能異常・糖尿病の関連につき述べる¹³⁾。

免疫抑制薬のなかではステロイドの関与が最も大きいと

される。グルココルチコイドの効果は用量依存性とされ、プレドニン 0.01 mg/kg/日の増加によって PTDM のリスクは 5% 増加、IGT のリスクは 4% 増加するとされている¹⁴⁾。また、CNI も移植後の糖尿病発症率増加と関連している。膵臓β細胞への直接毒性が想定されている。シクロスポリンとタクロリムスの比較では、種々の臓器の移植患者での検討で、タクロリムスは耐糖能異常および糖尿病のリスクがシクロスポリンより高いことが示されている¹⁵⁾。成人腎移植患者における検討で、糖尿病の発症リスクは移植後 1 年でタクロリムスはシクロスポリンと比較して最大 5 倍高いとされる¹³⁾。タクロリムスのトラフが高いことがリスクを高めることがわかっている。最近の報告では、この 10 年間のインターバルで PTDM 発症のリスクは半減したが、その主な原因は免疫抑制薬使用量の減少にあるとのことである¹⁶⁾。

高尿酸血症・痛風

腎移植患者は単腎であり、腎機能も多くの場合 subnormal であり、高尿酸血症の頻度は高いことが知られている。腎移植患者においては腎機能低下以外にも種々の因子が高尿酸血症の発症に関与するが、免疫抑制薬の関与としては、シクロスポリンによる影響が大きいとされる。シクロスポリンによる高尿酸血症発症のメカニズムに関しては多くの研究があり、シクロスポリン投与時に尿酸クリアランスの低下が認められることは概ね一致しているが、さらに詳細な尿細管での尿酸排泄・再吸収過程へのシクロスポリンの影響については一定した見解には至っていない¹⁷⁾。タクロリムスの高尿酸血症に対する影響については検討が少ないが、シクロスポリンとの比較で差を認めないとの報告もみられる¹⁸⁾。また、プリン代謝拮抗薬の一種ミゾリビンはわが国で開発され、その使用もわが国に限られているが、腎移植においても用いられる。高尿酸血症をきたすことが知られており¹⁹⁾、移植患者での使用時に高尿酸血症をみたらミゾリビンの関与も考慮する。

関連事項として注意点を述べると、プリン代謝拮抗薬であるアザチオプリンはその代謝酵素がキサンチンオキシダーゼであり、高尿酸血症治療薬のアロプリノールにより阻害を受けるため、薬物相互作用がみられ、アロプリノール投与により血中濃度上昇が生じて副作用が出やすくなる。よって、アザチオプリン投与中の移植患者における高尿酸血症治療ではアロプリノールの使用は禁忌である。

おわりに

腎移植後の全身管理において、生活習慣病に対する留意点につき、免疫抑制薬の関与を中心に解説した。治療法については誌面の制約から触れていない。

文 献

- Ojo AO. Cardiovascular complications after renal transplantation and their prevention. *Transplantation* 2006; 82: 603-611.
- Kavanagh D, Morris ST, Northridge DB, Rodger RS, Jardine AG. Electrocardiogram and outcome following renal transplantation. *Nephron* 1999; 81: 109-110.
- Kuypers DR, Vanrenterghem YC. Tailoring immunosuppressive therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 2051-2054.
- Karthikeyan V, Karpinski J, Nair RC, Knoll G. The burden of chronic kidney disease in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2004; 4: 262-269.
- De Nicola L, Libetta C, Memoli B, Bellizzi V, Colucci G, Imperatore P, Taccone W, Oriente L, Sepe V, Conte G. Acute renal and immunological effects of low-dose cyclosporin in humans. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 1739-1744.
- Kobashigawa JA, Kasiske BL. Hyperlipidemia in solid organ transplantation. *Transplantation* 1997; 63: 331-338.
- Ghanem H, van den Dorpel MA, Weimar W, Man in 't Veld AJ, El-Kannishy MH, et al. Increased low density lipoprotein oxidation in stable kidney transplant recipients. *Kidney Int* 1996; 49: 488-493.
- Ettinger WH, Bender WL, Goldberg AP, Hazzard WR. Lipoprotein lipid abnormalities in healthy renal transplant recipients: persistence of low HDL₂ cholesterol. *Nephron* 1987; 47: 17-21.
- Chan MK, Varghese Z, Moorhead JF. Lipid abnormalities in uremia, dialysis and transplantation. *Kidney Int* 1981; 19: 625-637.
- Becker DM, Chamberlain B, Swank R, Hegewald MG, Girardet R, et al. Relationship between corticosteroid exposure and plasma lipid levels in heart transplant recipients. *Am J Med* 1988; 85: 632-638.
- Gallon LG, Winoto J, Leventhal JR, Parker MA, Kaufman DB. Effect of prednisone versus no prednisone as part of maintenance immunosuppression on long-term renal transplant function. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 1029-1038.
- Kasiske BL, de Mattos A, Flechner SM, Gallon L, Meier-Kriesche HU, Weir MR, Wilkinson A. Mammalian target of rapamycin inhibitor dyslipidemia in kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2008; 8: 1384-1392.
- Davidson J, Wilkinson A, Dantal J, Dotta F, Haller H, Hernández D, Kasiske BL, Kiberd B, Krentz A, Legendre C, Marchetti P, Markell M, van der Woude FJ, Wheeler DC; International Expert Panel. New-onset diabetes after transplantation: 2003 International consensus guidelines. *Proceedings*

- of an international expert panel meeting. Barcelona, Spain, 19 February 2003. *Transplantation* 2003 ; 75 (Suppl 10) : SS3-24.
14. Hjelmsaeth J, Hartmann A, Kofstad J, Stenstrøm J, Leivestad T, Egeland T, Fauchald P. Glucose intolerance after renal transplantation depends upon prednisolone dose and recipient age. *Transplantation* 1997 ; 64 : 979-983.
 15. van Hooff JP, Christiaans MH, van Duijnhoven EM. Tacrolimus and posttransplant diabetes mellitus in renal transplantation. *Transplantation* 2005 15 ; 79 : 1465-1469.
 16. Valderhaug TG, Hjelmsaeth J, Rollag H, Leivestad T, Røislien J, Jenssen T, Hartmann A. Reduced incidence of new-onset posttransplantation diabetes mellitus during the last decade. *Transplantation* 2007 ; 84 : 1125-1130.
 17. Clive DM. Renal transplant-associated hyperuricemia and gout. *J Am Soc Nephrol* 2000 ; 11 : 974-979.
 18. Kanbay M, Akcay A, Huddam B, Usluogullari CA, Arat Z, Ozdemir FN, Haberal M. Influence of cyclosporine and tacrolimus on serum uric acid levels in stable kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 2005 ; 37 : 3119-3120.
 19. Ishikawa I, Maekawa S, Saito T, Horiguchi T, Shinoda A, Ishii H. Mizoribine-induced hyperuricemia. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1986 ; 28 : 1353-1357.

健康を脅かす慢性腎臓病 (CKD)



医療と技術

守山 敏樹*

Chronic kidney disease (CKD) as a newly recognized threat to health

Key Words : eGFR, proteinuria, cardio vasucular disease, end-stage renal failure

慢性腎臓病 (CKD) とはなにか

腎臓病の多くは慢性の経過をとり、その疾患スペクトラムは多岐にわたる。その分類には病変の主座によるもの(糸球体、尿細管、間質、血管)、また原発性と二次性があり、さらに腎生検によって得られる腎病理診断がここに盛り込まれることになる。このことは、腎臓病が非専門医にとってはなじみにくいものとなっている原因のひとつである。一方、従来腎機能低下が進行すると、原疾患に関わらず慢性腎不全として病態を把握し、治療/管理にあたってきた。CKD (Chronic Kidney Disease: 慢性腎臓病) という概念は、慢性に経過する腎臓病全体を、腎機能低下がない、もしくは軽度の段階から腎障害の存在(主に蛋白尿で検出される)および糸球体濾過量によって分類し、そこには従来腎臓病学が構築してきた精緻な疾病の体系を一切持ち込まないで、比較的軽度から末期腎不全にいたるすべての腎臓病を把握し、治療・対策を考えていこうというものである。

CKD の概念は米国で最初に提唱され、短期間の内に世界に広まった。その背景には①透析や移植を要する末期腎不全患者数が世界的に顕著に増加しており、医療経済上の大きな負担である、②CKD が末期腎不全への進行リスクであるばかりでなく、心血管疾患の発症リスクであることが確立した、③

CKD の頻度が予想以上に高く、今後も増加が予想される、などの認識が広まったことがある。従来の腎臓病の疾患名と比較して、CKD の概念はシンプルであるが、これはCKD の意義が腎臓病学の枠を超え広く医療の領域に関わること、そして一般社会への啓発が重要と考えられるため、非専門医、コメディカルスタッフ、さらには一般市民にとって理解されやすいことを重視したためである。

米国腎臓財団 (NKF) により2002年に Kidney Disease Outcome Quality Initiative (K/DOQI) からガイドラインが提示され¹⁾、その後2004年に、国際的に統一された取り組みを行う組織として KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcome) が設立された。KDIGO は K/DOQI による CKD の定義、分類をほぼ踏襲する形で KDIGO ガイドラインを作成した²⁾。一方、米国循環器学会は心血管疾患 (CVD) のリスクとしての CKD の重要性を踏まえて、2002年には CVD リスクとしての CKD に関する Scientific Statement を³⁾、また2006年には CVD 患者における CKD の早期発見の重要性についての Science Advisory⁴⁾ を発表している。ここに米国での大規模疫学研究の結果を示すが⁵⁾、腎機能低下が比較的軽度と考えられる段階から心血管事故、総死亡などのリスクが明らかに上昇する事実はインパクトを持って受け止められた (図1)。

このような国際的動向を背景として、日本腎臓学会においても CKD の総合的対策を担う組織として、2005年に慢性腎臓病対策委員会が発足し、疫学調査、ガイドライン作成、企画推進、国際連携を担うワーキンググループが活動を開始した。その活動の成果の一つとして2007年9月には、「CKD 診療ガイド」が上梓され、CKD 対策に大いに資するものとして診療現場で広く活用されている⁶⁾。さらに現在、科学的根拠に基づく CKD ガイドラインが作成されつ



*Toshiki MORIYAMA

1957年12月生
大阪大学医学部医学科 (1983年)
現在、大阪大学保健センター センター
長/教授 医学博士 内科学、腎臓学、
労働安全衛生
TEL: 06-6850-6011
FAX: 06-6850-6040
E-mail :
moriyama@wellness.hss.osaka-u.ac.jp

つあり、CKD 対策の一層の展開が期待される。

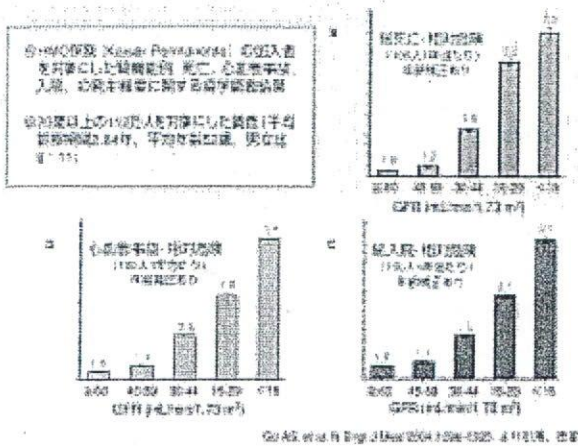


図1 腎機能 (GFR) 別の死亡、心血管事故および入院の相対危険

CKD の定義と診断基準

先述のごとく 2002 年に NKF の K/DOQI 診療ガイドラインの一つである Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, Stratification において、定義と診断基準、病期分類が提唱された。CKD とは、GFR で表される腎機能の低下があるか、もしくは腎臓の障害を示唆する所見 (代表的なものは蛋白尿をはじめとする尿異常、片腎や多嚢胞腎などの画像異常、病理所見などの存在) が慢性的に持続するものすべてを包含する。

CKD の病期分類には、腎機能の評価指標である GFR を用いることになっている。シンプルであることを重んじて K/DOQI ガイドラインでは GFR の 15 及び 30 の倍数で区切られている (表 1)。この分

表 1 K/DOQI-KDIGO ガイドラインによる慢性腎臓病 (CKD) の定義と病期 (ステージ) 分類

病期	定義	GFR (ml/min/1.73m ²)
1	腎臓病の所見あり、腎臓病の原因不明	> 90
2	軽度腎臓病	60-89
3	中等度腎臓病	30-59
4	高度腎臓病	15-29
5	腎不全	< 15

注: 1. GFR = eGFR (ml/min/1.73m²)
 2. 腎臓病の所見とは、蛋白尿、血尿、腎臓病の画像異常、腎臓病の病理所見などを指す。

類が世界標準となりつつあるが、必ずしも異なる人種や地域差を考慮したときにはそのまま適応されるとは限らない。2005年10月に、KDIGOが、CKDの定義と分類に関する国際会議を主催し、K/DOQIガイドラインはより明確な付帯事項をつけることで国際的に認められたが、ステージ毎の対策の具体的な中身については、人種や地域の事情により、エビデンスに基づいて変更を加えられるべきであるとされている⁷⁾。また、ステージ分類において、移植患者である場合にはTを、ステージ5で透析を受けている場合にはDをつけることとしている。

日本におけるCKDの頻度

わが国におけるCKDの頻度について、日本腎臓学会慢性腎臓病対策委員会疫学調査ワーキングが調査を行った。全国8カ所の20歳以上の健診データをもとに、日本人の年齢、性別人口構成比で補正して推計したところ、CKD3-5は成人人口の約10.6%、1098万人、またCKD1-2(腎機能低下なく、蛋白尿陽性)は2.3%、232万人となった。これらのCKD患者は末期腎不全(維持透析患者)の予備群として、CKD患者全体を氷山にたとえると、透析患者が氷山の一角であり、それ以外のCKD患者は氷山の海面下部分を形成するものとして存在する(図2)。



図2 日本のCKD患者数

CKDの功績と課題

慢性腎臓病、Chronic Kidney Disease (CKD) の概念の普及は日本の医療の質を高めることに寄与することが期待される。すなわち、CKDが広くかか

りつけ医、腎臓以外の専門領域の医師に認知され、その早期からCKDを意識した診療、特にCVDのリスク因子としてこれに介入することが普及することにより従来からの生活習慣病診療に新たな視点を加え、人々の生命予後改善へと資することが期待される。一方、留意すべき点としてCKDという診断名によってかかりつけ医はもとより腎専門医ですら『思考停止』を来す懸念を挙げたい。CKDという診断は病態へのアプローチの入り口として認識されるものであって、その病因、病態へと思考を進めることこそ、CKDの真に目指すところであると言える。CKDの概念では背景因子、原疾患が考慮されておらず、腎機能と尿蛋白のみでステージ分類されており、その対処法、予後まで踏み込んで議論することには限界があることをはっきりと認識すべきかと思われる。

腎機能の評価

腎臓は尿を生成する臓器であるが、より詳細には老廃物の排泄、水電解質バランスの調整、酸塩基平衡調整、血圧調節、内分泌機能などを果たしている。『腎機能』は臨床的には糸球体濾過と尿細管機能に分けられるが、腎の荒廃、全体的な障害の程度は糸球体濾過量(GFR)の低下となって現れるためこれをもって腎機能とすることが通常である。GFRを反映する血液生化学データは血清クレアチニンと尿素窒素であるが、GFRへの依存度が高いのは血清クレアチニンであり、日常臨床においては血清クレアチニン値の増加でGFRの低下を認識する。しかし、クレアチニン値による直感的な腎機能の程度と実際のGFRの間にはしばしばギャップが存在する。これは、血清クレアチニン値を規定する因子が①クレアチニン排泄能(GFR+尿細管分泌量)、②クレアチニン産生量(筋肉量に比例する)、と複数のためである。そこで、血清クレアチニン値と年齢、性別からGFRを推算する式が考案されている。従来クレアチニン測定はヤッフエ法が主に用いられてきたため腎機能推算式でのクレアチニン測定法は、ヤッフエ法をもとにしたものが多い⁸⁾。ヤッフエ法でのクレアチニン測定では、noncreatinine chromogenを含めて測定されるため、実際のクレアチニン値よりも測定値が高くなる。一方、現在はわが国の大半の施設では酵素法により血清クレアチニンの測定が

行われており、推算式を使用する場合には、酵素法による血清クレアチニン値に0.2を加え、ヤッフエ法のクレアチニン値に換算する必要があった。2006年には米国から酵素法によるクレアチニン値に対応したMDRD簡易式が発表された⁹⁾。日本腎臓学会でも①ヤッフエ法対応のMDRD簡易式、②酵素法対応のMDRD簡易式、それぞれに対して日本人により適合させるための民族係数を決定し、広くその使用の普及を図ってきた^{10,11)}。

しかし、MDRD式にはGFR>60ml/min/1.73m²の患者では、特に若年者において腎機能を過小評価するという欠点があり、より正確なGFR推算を目的として、日本腎臓学会CKD対策委員会プロジェクト『日本人のGFR推算』が発足し、イヌリンクリアランスと血清クレアチニン(国際標準化クレアチニンを用いた較正を経たシステムによる中央測定)、クレアチニンクリアランス測定等を行い、それをもとに新たなGFR推算式が決定された¹²⁾。

$$\text{GFR (ml/min/1.73m}^2\text{)} = 194 \times \text{Cr}^{-1.094} \times \text{Age}^{-0.287} \times 0.739 \text{ (if female)}$$

理想的には、臨床の場における個々の患者の正確な腎機能の評価には、イヌリンを用いたスタンダードクリアランス法によるGFRの測定が推奨される。しかしイヌリンクリアランスの測定は煩雑なため、日常臨床の場では24時間内因性クレアチニンクリアランス(Ccr)からGFRを推定するのが一般的であるが、尿細管分泌が上乗せされるためGFRより30%程度大きい値を示すことに留意する。実測Ccr(ml/min) = Ucr(mg/dl) × V(ml/日) / Scr(mg/dl)で求め、体表面積1.73m²あたりの補正を行う。具体的には下記の式から個人の体表面積Aを算出し、(1.73m²/体表面積A)を掛けて体表面積を施して評価することとなる。

Doboirの式

$$A = \text{体重 (kg)}^{0.425} \times \text{身長 (cm)}^{0.725} \times 7184 \times 10^6$$

なお、薬物投与量調整のために腎機能の評価するには、個人の腎機能実測値またはそれに準じるものを使用すべきであること留意する必要がある。ただし、標準的な体格の個人では1.73m²に補正された値を使用することは実用上問題ない。

尿所見の評価法

CKDにおける尿異常では血尿・蛋白尿、特に蛋白尿の存在が重要である。血尿、蛋白尿とも1+以上を異常者として対応する。試験紙法による蛋白尿が陰性であっても、糖尿病、高血圧、メタボリックシンドロームなどを有している場合には、微量アルブミン尿の測定が有意義であるが、保健適応は糖尿病性腎症のみであり実地診療の場での実施は事実上困難である。

(1) (血)蛋白尿例の評価法⁶⁾ (図3)

蛋白尿の陽性者では早朝尿や可能な限り蓄尿による尿蛋白の定量を行う。随時尿の場合は尿蛋白濃度と尿中クレアチニンとの比 (UP/Ucre) で評価する。血蛋白尿例で尿蛋白の量にかかわらず、蛋白尿単独で0.5g/day以上、あるいはUP/Ucreが0.5以上の症例は腎生検の適応を含めた精密検査が必要である。

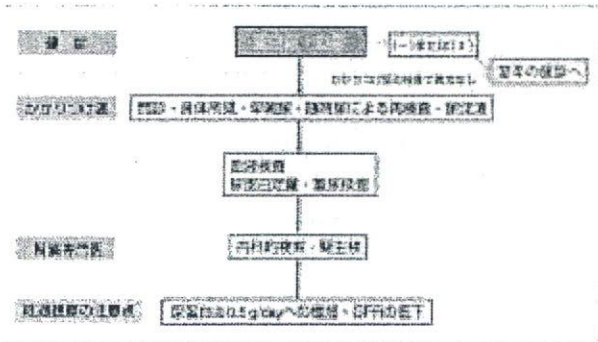


図3 尿所見の評価法 (蛋白尿・血尿)

(2) 血尿単独例⁶⁾ (図4)

将来腎不全へと進行する腎疾患の早期発見を目的とした場合、血尿単独例の大半は腎機能障害を来すことがまれなため、初めて検尿異常を指摘された段階において画像検査を含めた精密検査を行い、その後は原則的に蛋白尿出現までは検診で経過観察する。しかし、血尿が泌尿器科的疾患の初期徴候である可能性は否定できず、経過中に尿路刺激症状や肉眼的血尿等の出現時には必ず医療機関を受診するよう指導をすることは重要である。特に尿路系悪性腫瘍は高齢男性に多いこともあり、十分な注意が必要である。また、経過中約10%の患者で蛋白尿陽性となることが知られており、尿蛋白が陽性となった場合には、血蛋白尿としての対応が必要である。

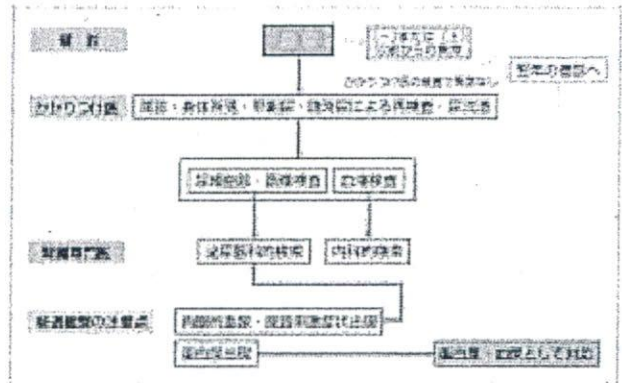


図4 尿所見の評価法 (血尿)

CKD診断とリスク因子の評価

日常診療におけるCKDの最大の利点はスクリーニングのツールとして心血管事故および末期腎不全のリスクを早期に認識することにある。ついては、CKDという切り口に対するリスク評価を心がけることが肝要である。CKDガイドにおいて、CKD発症・進行のリスクファクターを提示されている⁶⁾。ここでは治療・介入可能なリスクと介入不可能なリスクに分けて示す (表2)。

表2 CKDの発症/進行のリスクファクター

治療の可能性	リスクファクター
可能	<ul style="list-style-type: none"> ・高血圧 ・糖尿病、メタボリックシンドローム、肥満 ・脂質異常症 ・喫煙 ・代謝性因子(アシドーシス、高リン血症、貧血) ・高蛋白摂取/高食塩摂取 ・腎毒性の高剤(特にNSAIDs)、サプリメント ・膠原病 ・尿路結石、尿路感染症
不可能	<ul style="list-style-type: none"> ・CKDの家族歴 ・CVD(心血管疾患)の合併 ・高齢、男性 ・片腎 ・低出生時体重

茨城県での健康診断受診者10年間の追跡結果解析によれば¹³⁾、検診受診者で10年間の経過観察中にCKDステージ1~2(尿蛋白陽性)となるリスクファクターは、年齢、血尿、高血圧、耐糖能異常、糖尿病、脂質代謝異常、肥満、喫煙であった。この結果から、CKDハイリスク群では、禁煙を

指導し、高血圧、糖代謝異常・糖尿病、脂質代謝異常症、肥満の治療を行う必要がある。また男性では女性に比して尿蛋白が陽性となる割合が高いことが示されており、より厳格な治療・生活習慣改善が求められる。一方、腎機能低下 (eGFR<60ml/min/1.73m²) を示すCKD ステージ3が生じるリスクファクター (≒CKDの進行のリスク) としては、年齢、腎機能 (eGFR)、蛋白尿、血尿、高血圧、脂質代謝異常、糖尿病治療中、肥満 (女性のみ有意)、喫煙であった。男性、女性で多少重みはことなるが、これらがCKD進行のリスク因子と考えられる。従来想定されてきたリスクファクターがここにははつきりと根拠をもって示されており、日本人でのエビデンスが明らかとなったことは大変意義深い。

各CKDステージでの基本的アプローチ

a. ハイリスク群

腎機能正常 (GFR≥90ml/min/1.73m²) かつ検尿等に異常を認めないが、CKD リスクファクターを有する場合 (慢性腎臓病の家族歴、高血圧、糖尿病、メタボリックシンドローム、常用薬服用等、表2参照) 定期的な尿検査を実施し、CKDの早期発見を心がける。微量アルブミン尿測定は早期発見にきわめて有効であるが、現行の健康保険では、尿中アルブミン定量精密測定は『早期糖尿病性腎症患者であって微量アルブミン尿を伴うもの (糖尿病性腎症第1期および第2期) に対して行った場合に3ヶ月に一回限り算定できる』とされている。従って、糖尿病性腎症と病名がついた場合のみ3ヶ月に一度の測定が保険で認められることになる。実際には、尿アルブミン定量は高血圧性腎障害や、メタボリックシンドロームにともなうCKDにおいても早期診断に有用である。また、尿アルブミンは心血管病の独立した危険因子であることも明らかとなっている。以上から、糖尿病性腎症以外のCKD診療において尿アルブミン測定が保険で認められることが強く望まれている。

b. ステージ1, 2

腎機能正常 (GFR≥90 ml/min/1.73m²) または軽度低下 (90>GFR≥60ml/min/1.73m²) であり、かつ腎障害 (≒蛋白尿) を伴う状態である。腎生検

の適応も考慮すべき狭義の腎疾患 (糸球体腎炎、間質性腎炎、血管炎、膠原病などによる腎障害) によるCKDとそれ以外の主として生活習慣病や加齢にともなうCKDを区別して考えるのが実際的である。

1) 狭義の腎疾患によるCKD

背景因子として高血圧、糖尿病、メタボリックシンドローム等を有さない検尿異常をみたら糸球体腎炎、膠原病性腎障害等の存在を念頭において、早急に腎臓専門医に紹介し、腎生検等を含めた精密検査によって診断を確定し原疾患に対する治療を開始することが望ましい。また、蛋白尿が大量でネフローゼ症候群を呈する場合も直ちに専門医の診療が必要である。成人に多い腎疾患を示す (表3)。これらの多くは末期腎不全の大きなリスクであるとともに、心血管事故のリスク因子である。

2) 生活習慣病などによるCKD

生活習慣関連の背景因子を有する場合、検尿異常が持続していても直ちに腎生検の適応とはならないことが多い。こちらに含まれる患者数が多いと考えられるため、プライマリ・ケア医の役割が非常に重要である。また、心血管事故のリスクとして重要である。高血圧、糖尿病、メタボリックシンドローム、高尿酸血症などの背景因子に対する十分な介入をしながら、腎機能保持、心血管リスク軽減を目指した治療を進める。必要に応じて腎臓専門医と連携する。

腎疾患	腎臓病	腎臓病
腎小球性腎症 (糸球体腎炎)	慢性腎臓病 (腎臓病)	腎臓病
糸球体腎炎	糸球体腎炎	慢性腎臓病
慢性腎臓病	慢性腎臓病	慢性腎臓病
慢性腎臓病	慢性腎臓病	慢性腎臓病
慢性腎臓病	慢性腎臓病	慢性腎臓病
慢性腎臓病	慢性腎臓病	慢性腎臓病
慢性腎臓病	慢性腎臓病	慢性腎臓病
慢性腎臓病	慢性腎臓病	慢性腎臓病
慢性腎臓病	慢性腎臓病	慢性腎臓病

表3 成人に多い腎疾患

c. ステージ3, 4

ステージ3は腎機能中等度低下 (60>GFR≥30 ml/min/1.73m²)、ステージ4は腎機能高度低下 (30>GFR≥15 ml/min/1.73m²) である。ステージ3になれば、腎臓専門医にコンサルトの上連携して診療に

あたり、ステージ4に至れば専門医にゆだねることが望ましい。40-69歳ではeGFR<50 ml/min/1.73m²、70歳以上ではeGFR<40 ml/min/1.73m²から末期腎不全への進行リスク(速度)が有意に高まる。腎毒性物質(NSAIDs, ある種の抗生物質), 脱水等による腎機能の急激な悪化(腎不全の急性増悪)に注意を払う。ステージ1, 2の注意に加えて、心血管リスク軽減、イベント発生回避を念頭においた腎不全治療が重要となる。

予後から考えるCKD

CKDとして一括される病態において、心血管イベントのリスク因子としてのCKDと末期腎不全のリスク因子としてのCKDの差異につき考えてみる。最も大きな違いは、CKDの存在が心血管イベントに対しては確率的影響を及ぼし、末期腎不全出現には確定的影響の様式で関与することである。すなわち、心血管イベントはCKDのどのステージからでもCKDの非存在時よりは高率に発症し、かつCKDステージが進行するにつれてその確率は上昇する。一方、末期腎不全に至る場合、通常腎機能低下は比較的長期間の経過で進行するのであって、心血管イベントのような突然の発症様式をとることはない。そしてそのリスクはCKDステージの進行とともに高まっていくと考えられる。この違いを念頭に置きながらCKD診療にあたることは重要と考えられる。図5はCKD診療ガイドに示されたCKD発症・進展の概念図であるが、心血管合併症が中心に据えられておりCKDのいずれのステージからも発症すること、そして末期腎不全はCKDのステージに沿って進行することが理解されやすいものとなっている。

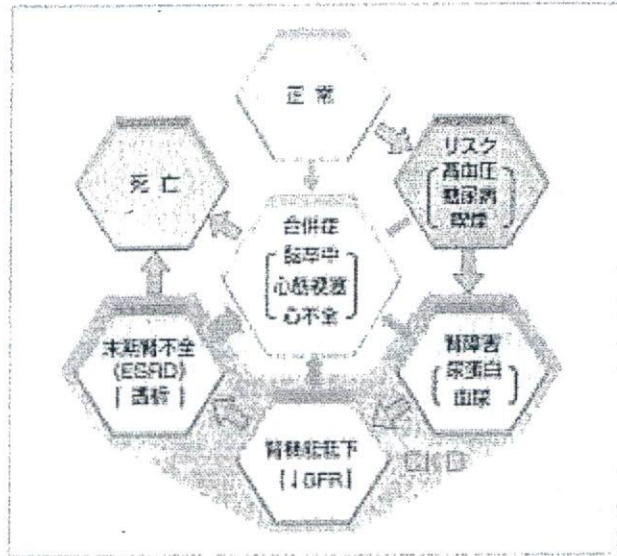


図5 CKDの発症と進行の概念

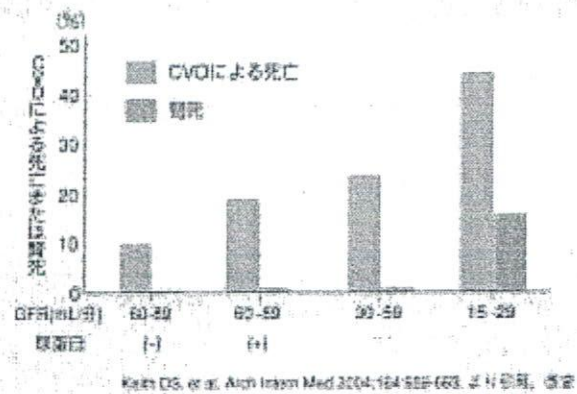


図6 腎機能別にみたCVDによる死亡とESRD(移植を含む)発症率(米国の成績)

a. 心血管イベントのリスク

eGFR<90 ml/min/1.73m²の対象者27,998名を66か月観察し、腎死とCVDによる死亡の発症率を追跡調査したKeithらの報告¹⁴⁾では、CKDの病期分類2-4期の順に各々、腎死が1.1%、1.3%、19.9%であったのに対して、死亡は19.5%、23.3%、45.7%であった。すなわち、多くのCKD患者(特にステージ2-3)では、腎代替療法が必要な末期腎不全に至ることなく死亡していることを意味する。この死亡の原因がほぼCVDと推定されており、本研究からCKD患者をCVDの高リスク群であるこ

とを認識することの重要性が実感される(図6)。また既に図1に示したように、腎機能低下と心血管事故、総死亡、入院のリスクの間には相関関係が存在することも明らかである。わが国においてもCVDのリスクとしてのCKDに関する報告がなされているが、eGFR<60 ml/min/1.73m²から心血管イベントリスクが高まることは示されている¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾。しかし、さらに細かい腎機能階層別の心血管リスク増加に関する知見は十分とは言えずこれからの課題と考えられる。また、微量アルブミンの存在は糖尿病患者においてCVDのリスクであることは古くから知られていたが¹⁸⁾、一般住民においても微量アルブミンの出現によってCVD発症、冠動脈疾患発症・

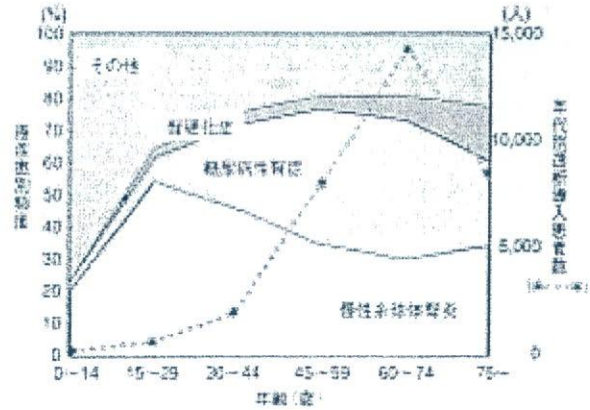
死亡リスクが有意に高まることが報告された¹⁹⁾²⁰⁾。また、顕性蛋白尿の存在により心血管イベントの発症率が高まるとは古くから報告されているところである²¹⁾。

b. 末期腎不全に至るCKDの特徴

CKD という観点から末期腎不全のリスクを考察すると以下のごとくとなる。

日本人のGFRの低下速度は平均 0.36 ml/min/1.73m²/年であり、40-69歳で 50ml/min/1.73m²以下、70-79歳では 40 ml/min/1.73m²以下の腎機能の場合、腎機能低下速度が有意に早まる。その際、蛋白尿(試験紙法で+1以上)の存在でどの年齢層でも腎機能低下速度はおおよそ2倍となる²²⁾。進行した腎機能の低下(CKD ステージ4,5)は末期腎不全のリスクであり、蛋白尿およびアルブミン尿陽性は末期腎不全のリスクである。蛋白尿、アルブミン尿の程度が増すごとにリスクが高くなる。糖尿病では微量アルブミン尿出現は末期腎不全のリスクとなる。また治療による、蛋白尿、アルブミン尿の減少の程度は、腎機能悪化抑制と相関がある。一方、尿潜血(試験紙法)は、男性において末期腎不全のリスクであるが、その関与度は蛋白尿に比べると弱い。また、尿潜血と尿蛋白の両方が陽性的の場合、末期腎不全のリスクが高い。

わが国の末期腎不全の原疾患としては、透析導入疾患のデータから従来明らかになっているように糖尿病、慢性糸球体腎炎、腎硬化症が三大疾患となっており、これらで約78%を占める。透析導入の年代別に頻度を表したものが図7である。これらのうち前2者は1g/日以上(アルブミン尿)を呈することが多い。蛋白尿の存在は末期腎不全へと至る大きなリスクであり、井関²³⁾らによれば蛋白尿がある場合の1000人あたりの末期腎不全発症人数は、86.8人(Ccr<50.2)、13.6人(Ccr:50.2-63.9)、8.3人(Ccr:64.0-79.3)、7.9人(Ccr>79.4)であり、蛋白尿がない場合、1.2人(Ccr<50.2)、0.7人(Ccr:50.2-63.9)、0.04人(Ccr:64.0-79.3)、0.13人(Ccr>79.4)であり、蛋白尿がある場合、Ccrの低下は末期腎不全のリスクといえるが、蛋白尿がない場合、軽度腎機能低下患者の末期腎不全のリスクは高くないと言える。この事実は特に腎機能が軽度低下した高齢者の診療にあたって、蛋白尿の有無によってリ



日本透析学会編 わが国の慢性透析導入の現状(2006年12月21現在)より引用、改訂

図7 年代別慢性腎不全原疾患の頻度

スクを判断し、専門医への紹介を考慮する際に参考となると考えられる。

おわりに

CKDにおける心血管イベントリスクは腎機能低下、尿中アルブミン排泄いずれの観点でも閾値は明らかでなく、軽度の異常を伴う時点からそのリスクの有意な上昇を認める。これに対して末期腎不全へと至るリスクには、閾値の存在が想定され、中等度以上の腎機能低下の存在もしくは顕性蛋白尿の持続によって明白に上昇する。わが国におけるCKDの心血管イベント、および末期腎不全発症リスクの定量的解析は未だ十分ではなく、特にこれら両者を同時に比較検討した研究はない。今後、腎機能と蛋白尿の両者の心血管イベント、末期腎不全発症に対する寄与度を定量的にとらえ、CKDという観点からの心血管事故および末期腎不全のリスク評価を確立していくことが重要な課題と考えられる。図8に日本腎臓学会が提唱する社会全体としてのCKD対策のあり方を提示する。このようなアプローチによってわが国が健康長寿を享受できる成熟社会へと発展することを期待したい。

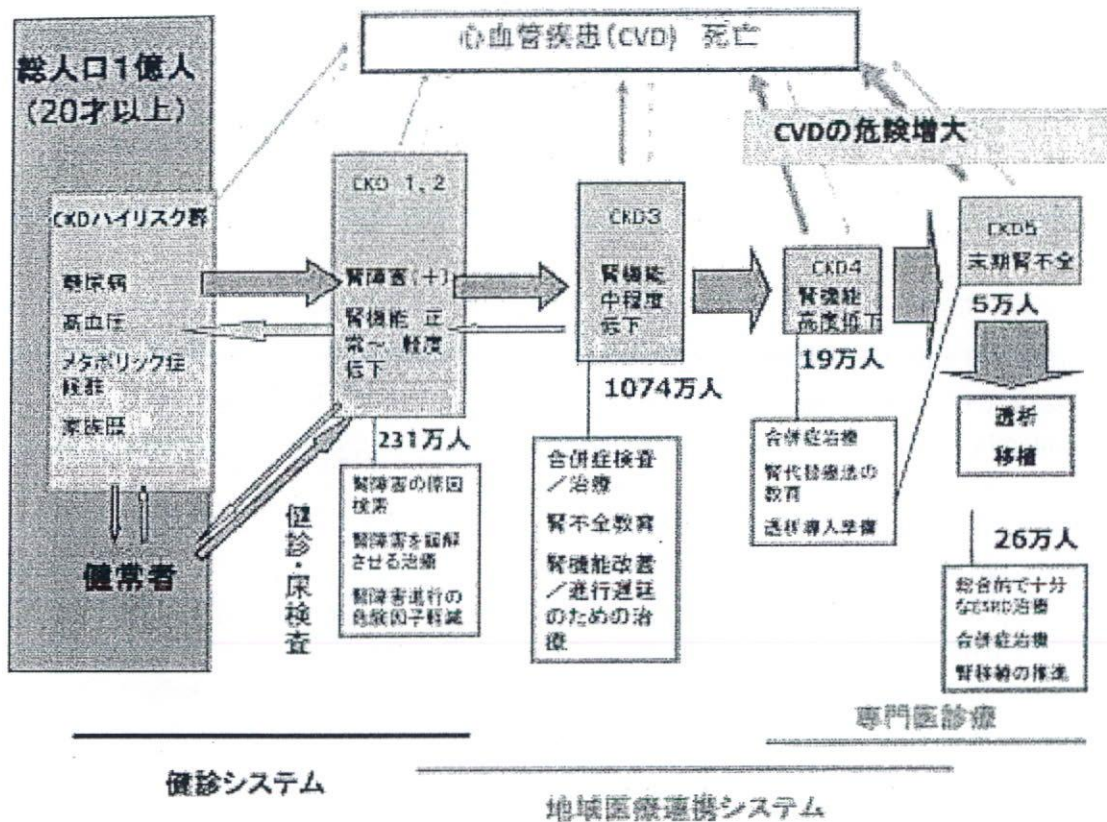


図8

文献

1. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Am J Kidney Dis 2002 39:1-266
2. Levy AS et al: Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcome (K/DIGO) Kidney Int 2005, 67:2089-2100
3. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culeton B, Hamm LL, McCullough PA, Kasiske BL, Kelepouris E, Klag MJ, Parfrey P, Pfeffer M, Raji L, Spinosa DJ, Wilson PW; American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. Circulation. 2003 Oct 28;108(17):2154-69.
4. Brosius FC 3rd, Hostetter TH, Kelepouris E, Mitsnefes MM, Moe SM, Moore MA, Pennathur S, Smith GL, Wilson PW; American Heart Association Kidney and Cardiovascular Disease Council; Council on High Blood Pressure Research; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Epidemiology and Prevention; Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. Detection of chronic kidney disease in patients with or at increased risk of cardiovascular disease: a science advisory from the American Heart Association Kidney and Cardiovascular Disease Council; the Councils on High Blood Pressure Research, Cardiovascular Disease in the Young, and Epidemiology and Prevention; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group: developed in collabora-

- tion with the National Kidney Foundation. *Circulation*. 2006 Sep 5;114(10):1083-7.
5. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004 Sep 23;351(13):1296-305.
 6. CKD診療ガイド：日本腎臓学会編，東京医学社，2007
 7. Chronic kidney disease as a global public health problem: Approaches and initiatives a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney Int* 2007 72:247-259
 8. Levey A, Bosch J, Lewis J, Green T, Rogers N, Roth D: A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: A new prediction equation. *Ann Intern Med*. 130:461-470, 1999
 9. Levey A, Coresh J, Greene T, Lesley A, Zhang Y, Hendriksen S, Kuse J, Van Lente F: Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 145:247-254, 2006
 10. Imai E, Horio M, Nitta K, Yamagata K, Iseki K, Hara S, Ura N, Kiyohara Y, Hirakata H, Watanabe T, Moriyama, Ando Y, Inaguma D, Narita I, Iso H, Wakai K, Yasuda Y, Tsukamoto Y, Ito S, Makino H, Matsuo S: Estimation of glomerular filtration rate by the MDRD equation modified for Japanese patients with chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 11:41-50, 2007
 11. Imai E, Horio M, Nitta K, Yamagata K, Iseki K, Tsukamoto Y, Ito S, Makino H, Hishida A, Matsuo S: Modification of the Modified Diet Renal Disease (MDRD) Study equation for Japan. *Am J Kidney Dis* 50, 2007
 12. Matsuo S, Imai E, Horio Y, Yosuda Y, Tomita K, Nitta K, Yamagata K, Tomino Y, Yokoyama H, Hishida A on behalf of the collaborators for developing Japanese equation for estimating GFR. The Japanese Equations for Estimating Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine. in submission
 13. Yamagata K, Ishida K, Sairenchi T, Takahashi H, Ohba S, Shiigai T, Narita M, Koyama A. Risk factors for chronic kidney disease in a community-based population: a 10-year follow-up study. *Kidney Int*. 71:159-66, 2007.
 14. Keith DS, Nichols GA, Gullion CM, Brown JB, Smith DH Longitudinal follow-up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization. *Arch Intern Med* 164:659-63, 2004
 15. Ninomiya T, Kiyohara Y, Kubo M, Tanizaki Y, Doi Y, Okubo K, Wakugawa Y, Hata J, Oishi Y, Shikata K, Yonemoto K, Hirakata H, Iida M Chronic kidney disease and cardiovascular disease in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Kidney Int* 68:228-36, 2005
 16. Irie F, Iso H, Sairenchi T, Fukasawa N, Yamagishi K, Ikehara S, Kanashiki M, Saito Y, Ota H, Nose T. The relationships of proteinuria, serum creatinine, glomerular filtration rate with cardiovascular disease mortality in Japanese general population. *Kidney Int* 69:1264-71, 2006
 17. Nakayama M, Metoki H, Terawaki H, Ohkubo T, Kikuya M, Sato T, Nakayama K, Asayama K, Inoue R, Hashimoto J, Totsune K, Hoshi H, Ito S, Imai Y. Kidney dysfunction as a risk factor for first symptomatic stroke events in a general Japanese population—the Ohasama study. *Nephrol Dial Transplant* 22:1910-5, 2007
 18. Dinneen SF, Gerstein HC. The association of microalbuminuria and mortality in non-insulin-dependent diabetes mellitus. A systematic overview of the literature. *Arch Intern Med* 157:1413-8, 1997
 19. Hillege HL, Fidler V, Diercks GF, van Gilst WH, de Zeeuw D, van Veldhuisen DJ, Gans RO, Janssen WM, Grobbee DE, de Jong PE. Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation* 106:1777-82, 2002
 20. Klausen K, Borch-Johnsen K, Feldt-Rasmussen

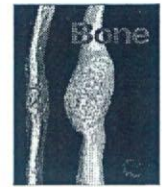
- B, Jensen G, Clausen P, Scharling H, Appleyard M, Jensen JS. Very low levels of microalbuminuria are associated with increased risk of coronary heart disease and death independently of renal function, hypertension, and diabetes. *Circulation* 110:32-5, 2004
21. Kannel WB, Stampfer MJ, Castelli WP, Verter J. The prognostic significance of proteinuria: the Framingham study. *Am Heart J* 108:1347-52, 1984
22. Imai E, Horio M, Yamagata K, Iseki K, Hara S, Ura N, Kiyohara Y, Makino H, Hishida A, Matsuo S. Slower decline of glomerular filtration rate in the Japanese general population: a longitudinal 10-year follow-up study. *Hypertens Res.* 2008 Mar;31(3):433-41.
23. Iseki K, Kinjo K, Iseki C, Takishita S. Relationship between predicted creatinine clearance and proteinuria and the risk of developing ESRD in Okinawa, Japan. *Am J Kidney Dis.* ;44(5):806-14, 2004





Contents lists available at ScienceDirect

Bone

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bone

Serum 25-hydroxyvitamin D as an independent determinant of 1-84 PTH and bone mineral density in non-diabetic predialysis CKD patients

Kodo Tomida^a, Takayuki Hamano^{a,*}, Satoshi Mikami^a, Naohiko Fujii^b, Noriyuki Okada^c, Isao Matsui^a, Yasuyuki Nagasawa^a, Toshiki Moriyama^a, Takahito Ito^a, Enyu Imai^a, Yoshitaka Isaka^a, Hiromi Rakugi^a

^a Department of Geriatric Medicine and Nephrology, Osaka University Graduate School of Medicine, Box B6, 2-2 Yamada-oka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

^b Department of Nephrology, Hyogo Prefectural Nishinomiya Hospital, Nishinomiya, Japan

^c Osaka General Medical Center, Department of Nephrology, Osaka, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 July 2008

Revised 15 November 2008

Accepted 20 November 2008

Available online xxxx

Edited by: T. Matsumoto

Keywords:

Bone mineral density

Chronic kidney disease–mineral and bone disorder

Fibroblast growth factor-23

25-hydroxyvitamin D

Parathyroid hormone (1-84)

ABSTRACT

The role of 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] and fibroblast growth factor-23 (FGF-23) in chronic kidney disease–mineral and bone disorder (CKD-MBD) remains elusive in predialysis CKD patients. From the fact that FGF-23 suppresses bone mineralization *in vitro* and that 1 α -hydroxylase is present in parathyroid cells and osteoblasts, they may be associated with bone mass or serum parathyroid hormone (PTH) level. In this cross-sectional observational study, we investigated the potential associations of 25(OH)D or FGF-23 with 1-84 PTH and bone mineral density (BMD) in the femoral neck (FN) and lumbar spine (LS) of 325 non-diabetic patients. All patients had stages 3–5 CKD and had never been treated with bisphosphonate, estrogen, or vitamin D. We measured bone-specific alkaline phosphatase (bone ALP), intact FGF-23 and 1-84 PTH in a third generation assay, and performed a multiple regression analysis for 1-84 PTH and BMD Z-score. In our cohort, 80.1% had 25(OH)D levels less than 30 ng/mL, and 4.1% had levels less than 15 ng/mL. A univariate analysis indicated a negative association for 25(OH)D with 1-84 PTH and bone ALP. A multivariate analysis showed that the significant determinants for 1-84 PTH were 25(OH)D, estimated glomerular filtration rate (eGFR), corrected calcium, serum calcitriol and phosphate. Intriguingly, the three former parameters had negative associations with 1-84 PTH while calcitriol had a positive association. While further adjustment of FGF-23 extinguished the positive association of phosphate and 1-84 PTH, there was absolutely no increase in the R^2 . With regard to the BMD Z-score, 25(OH)D and the body mass index were the significant common independent positive determinants for both FN and LS, whereas bone ALP was the negative determinant even though there was no correlation noted for 1-84 PTH, calcitriol, or FGF-23 with BMD. In addition, eGFR positively contributed to the Z-score only in FN. Therefore, despite a positive correlation between 25(OH)D and calcitriol, their contribution to the CKD-MBD appears to be different. Since the significant associations for 25(OH)D with 1-84 PTH and BMD were independent of serum calcitriol and bone ALP, this might imply that 25(OH)D has a direct effect on the parathyroid gland and bone.

© 2008 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

It is generally accepted that low serum levels of calcium and calcitriol combined with high phosphate levels contribute to the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism (II HPT) in chronic kidney disease (CKD) patients [1–4]. However, even after adjusting for the many confounding factors, a clear correlation between 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] with predialysis II HPT and bone mineral density (BMD) has yet to be demonstrated.

For a long time, 25(OH)D was believed to be just a precursor of calcitriol that had no inherent biological activity, and thus, was simply used as an indicator of the nutritional state. However, recent studies have demonstrated that parathyroid cells and osteoblasts contain 1 α -

hydroxylase [5] and megalin, which is the main endocytic receptor in the proximal tubules for the re-uptake of proteins, including the vitamin D-binding protein (DBP)/25(OH)D complex [6]. These data suggest a possible clinical relevance of 25(OH)D in bone metabolism and in parathyroid function.

An insufficiency of 25(OH)D is a common condition seen in both the general population and in CKD patients [7,8]. In order to manage II HPT in predialysis CKD patients, the Kidney Disease Outcome Quality Initiative (K/DOQI) guidelines have recommended ergocalciferol administration to stages 3 or 4 CKD patients if they have intact parathyroid hormone (PTH) levels greater than the target range and 25(OH)D levels less than 30 ng/mL (75 nmol/L) [9]. In fact, serum 25(OH)D has been shown to be inversely correlated with PTH in individuals with or without CKD [10–13], as well as in renal transplantation patients [14]. However, PTH levels in these studies were measured using a second-generation (intact PTH) assay that also

* Corresponding author. Fax: +81 6 6879 3857.

E-mail address: hamatea@medone.med.osaka-u.ac.jp (T. Hamano).

detects 7-84 PTH as well as the bioactive 1-84 PTH. Kazama et al. [15] reported that the ratio of 1-84 PTH to intact PTH changes remarkably as the renal function declines. In addition, vitamin D status itself has also been shown to affect this ratio [16]. Therefore, in cases of renal failure, it is unclear if the vitamin D status actually contributes to the serum 1-84 PTH level (not the intact PTH level).

When studying the contribution of 25(OH)D to 1-84 PTH, one of the important confounders is, the novel phosphaturic hormone, fibroblast growth factor 23 (FGF-23). FGF-23 affects vitamin D metabolism through the inhibition of 1 α -hydroxylase [17]. This hormone is also upregulated under the conditions of excessive PTH [18]. Bone cells express fibroblast growth receptor 1, suggesting that FGF-23 could alter bone mineralization through a direct effect on the skeleton. A recent study has shown that overexpression of FGF-23 suppresses osteoblast differentiation and matrix mineralization *in vitro* [19]. Therefore, the potential exists for this hormone to affect the BMD in predialysis CKD patients.

In the present study, after adjusting for confounders including FGF-23, we attempted to determine the difference between serum 25(OH)D and calcitriol with regard to the contribution to CKD-mineral and bone disorders (CKD-MBD). To achieve this, we examined which laboratory data were associated with BMD and serum 1-84 PTH (not intact PTH) in a group of non-diabetic predialysis patients.

Patients and methods

Study design and subjects

In this cross-sectional observational study, we enrolled 325 predialysis patients who were 18 years or older and who had stages 3–5 CKD (210 men and 115 women). Patients were excluded if they had a history of treatment with glucocorticoids, calcium, vitamin D analogues, ergocalciferol, cholecalciferol, bisphosphonates, sodium bicarbonate, estrogens, or selective estrogen receptor modulators. Patients with primary hyperparathyroidism or liver cirrhosis were also excluded. Because diabetes mellitus affects bone turnover [20] due to impaired osteoblast function [21], we studied non-diabetic predialysis patients with stages 3 to 5 CKD.

Laboratory measurements

Blood samples were drawn from ambulatory patients at the outpatient clinic of Osaka University Hospital and Osaka General Medical Center. We centrifuged the blood at room temperature at 3000 rpm for 5 min, with the serum then stored at -80°C until analysis. Blood chemistry [serum creatinine, albumin (Alb), calcium (Ca), and phosphate] was measured using standard automated techniques. Full length 1-84 PTH was measured using a third-generation assay (whole PTH, Scantibodies, Santee, CA, USA). The biologically active form of FGF-23 was measured using a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay system (Kainos Laboratories, Inc., Tokyo, Japan). Bone-specific alkaline phosphatase (bone ALP) was assayed by using the Osteolinks-Bone ALP high-sensitivity diagnostic enzyme immunoassay (EIA) kit (Sumitomo Pharmaceuticals, Co.,

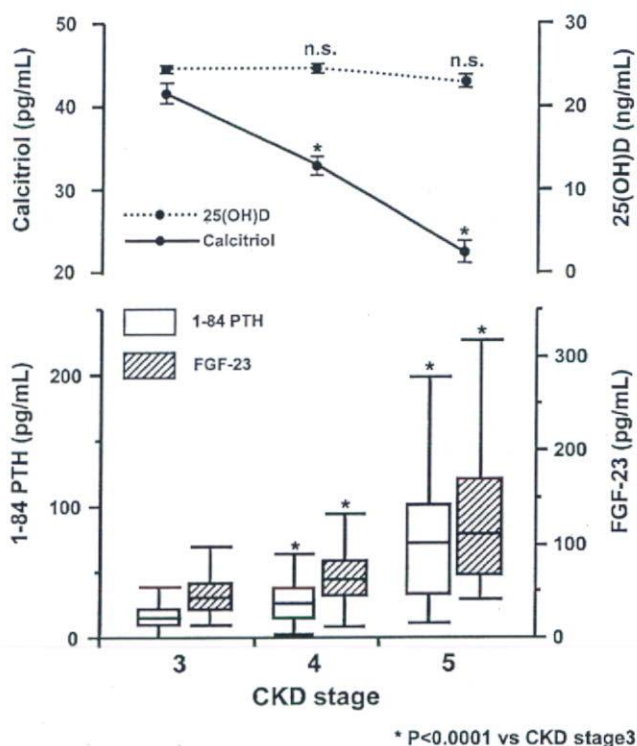


Fig. 1. Changes of phosphaturic hormones, calcitriol and vitamin D status across CKD stages. Calcitriol and 25(OH)D are shown as the mean (\pm SEM). The boxes for 1-84 PTH and FGF-23 represent the interquartile range, with the upper and lower edges representing the 75th and 25th percentiles, respectively. The central horizontal lines represent the median levels. The vertical lines above and below the boxes represent the range of outliers up to 1.5 times the interquartile range. * $P < 0.05$ vs. CKD stage 3.

Osaka, Japan). The levels of serum calcitriol and 25-hydroxyvitamin D were measured by using a 1,25-hydroxyvitamin D RIA kit 'TFB' (Immunodiagnostic Systems Ltd., Boldon, UK) and a ^{125}I RIA kit (DiaSorin Inc., Stillwater, MN, USA), respectively. The serum Ca level was corrected for Alb by the formula ($S\text{-Ca}$; serum corrected $\text{Ca} = \text{Ca} + \text{B} (4 - \text{Alb})$, if $\text{Alb} < 4.0 \text{ g/dL}$) [22]. We measured the BMD of the second to fourth lumbar vertebrae (L2–4) in addition to the femoral neck with a dual-energy X-ray absorptiometer (Discovery A, Hologic Inc., Bedford, MA, USA) in the posterior-anterior projection. Values were expressed by the age- and sex-adjusted Z-score.

Statistical analysis

Data are reported as the mean \pm SD or the median and range. The estimated GFR (eGFR) was calculated by the MDRD formula optimized for Japanese patients [$(0.741 \times 175 \times \text{Cr}^{-1.154} \times \text{Age}^{-0.203} \times 0.742$ (if female))] [23]. Patients were categorized and placed into three groups according to their eGFR (CKD stage 3: eGFR 30 to 60 mL/min/1.73 m^2 ; CKD stage 4: eGFR 15 to 30 mL/min/1.73 m^2 ; or CKD stage 5: eGFR less than 15 mL/min/1.73 m^2). We investigated the independent determinants of 1-84 PTH and the age- and sex-adjusted BMD Z-score by using a multiple linear regression analysis. Variables that were significantly affected in the bivariate analysis ($P < 0.2$) were included in a forward and backward stepwise multiple regression analysis. To take into account the contribution of the seasons with regard to the vitamin D status, we converted the seasons to dummy variables in the multiple regression analyses for 1-84 PTH and bone ALP. Because their distributions were skewed, bone ALP, 1-84 PTH and FGF-23 were log transformed before the regression analysis. Statistical tests were two-sided, and P -values less than 0.05 were considered statistically significant. All analyses were

Table 1
The characteristics of enrolled patients

CKD stage	3	4	5	P
Numbers of the patients (Female)	143 (52)	133 (47)	49 (16)	n.s.
Age (years)	62.4 \pm 13.8	63.0 \pm 14.5	61.6 \pm 14.8	n.s.
BMI (kg/m^2)	24.0 \pm 3.3	22.4 \pm 3.1	22.5 \pm 4.0	0.0118
Corrected Ca (mg/dL)	9.39 \pm 0.49	9.30 \pm 0.40	9.00 \pm 0.61	<.0001
Phosphate (mg/dL)	3.26 \pm 0.50	3.47 \pm 0.59	4.10 \pm 0.75	<.0001

CKD, chronic kidney disease; BMI, body mass index.

performed with JMP ver. 7.0.1J for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Results

The characteristics of the study population are summarized in Table 1. In accordance with the K/DOQI guideline recommendations, we found that 234 out of 291 patients (80.1%) had 25(OH)D levels less than 30 ng/mL (vitamin D insufficient), while 12 patients (4.1%) had levels less than 15 ng/mL (vitamin D deficient). However, if we used a cut-off value of 20 ng/mL to indicate a vitamin D deficiency [13], then 54 patients (16.6%) were considered to be vitamin D deficient. Serum 25(OH)D levels did not differ across the CKD stages. The variations of 25(OH)D, calcitriol, FGF-23 and 1-84 PTH across the CKD stages are illustrated in Fig. 1. There was a significantly positive association between the serum calcitriol levels and the serum 25(OH)D levels in CKD stage 3 ($r=0.14$, $P=0.045$) and stage 4 ($r=0.39$, $P=0.0008$) patients. No significance was noted for the CKD stage 5 patients.

Determinants of 1-84 PTH

In a univariate analysis, serum 25(OH)D had a significant negative association not only with 1-84 PTH but also with the bone formation marker, bone ALP (Fig. 2). S-Ca, phosphate, calcitriol, eGFR and FGF-23 were also significantly associated with 1-84 PTH. By using these parameters along with age and gender as independent variables, we constructed two models and performed a multiple regression analysis

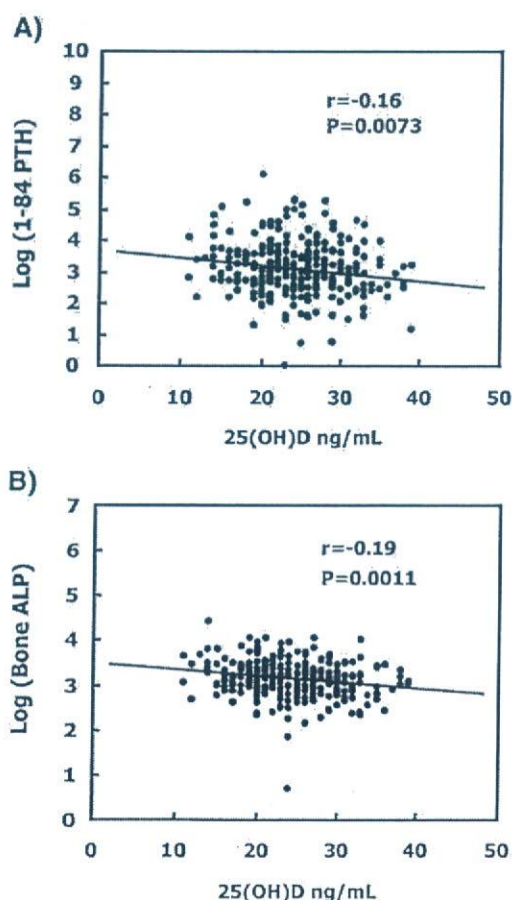


Fig. 2. Relationships between 25(OH)D and (A) Log(1-84 PTH), and (B) Log(Bone ALP). Serum 25-hydroxyvitamin D was negatively associated with not only with 1-84 PTH, but also with the bone turnover marker bone ALP.

Table 2
Multiple regression analysis for log (1-84 PTH)

	Model 1: FGF-23 (-)			Model 2: FGF-23 (+)		
	β	S.E.	P value	β	S.E.	P value
25(OH)D	-0.0250	0.0073	0.0008	-0.0258	0.0077	0.0010
Calcitriol	0.0107	0.0033	0.0012	0.0119	0.0034	0.0005
Corrected Ca	-0.2985	0.0837	0.0004	-0.2999	0.0860	0.0006
eGFR	-0.0496	0.0048	<.0001	-0.0442	0.0054	<.0001
Phosphate	0.1421	0.0692	0.0408	0.0522	0.0782	0.50 (n.s.)
Log (FGF-23)				0.2233	0.0905	0.0143
			$R^2=0.45^*$			$R^2=0.46^*$

SE, Standard error; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; eGFR, estimated glomerular filtration rate; FGF-23, fibroblast growth factor-23.

* Corrected R^2 for degree of freedom.

for 1-84 PTH in order to investigate the factors promoting HPT. FGF-23 was excluded in model 1 and included in model 2. In both models, 25(OH)D, corrected Ca, and eGFR were negatively associated with 1-84 PTH. Intriguingly, calcitriol was found to be positively associated with 1-84 PTH. As for phosphate, the positive association seen in model 1 disappeared in model 2, in which FGF-23, in stead of phosphate, showed positive association with 1-84 PTH (Table 2). Moreover, when we made adjustments for the seasons, there were no changes noted in the results.

Multiple regression analysis showed that only 1-84 PTH was a determinant of bone ALP in males, whereas in females, in addition to 1-84 PTH, younger age and post-menopausal status were also associated with a higher bone ALP (Table 3). The ratio for the bone ALP to 1-84 PTH (bone ALP/1-84 PTH) was demonstrated to be positively associated with eGFR [Log (bone ALP/1-84 PTH) = $0.03^*eGFR - 0.93$, $R^2=0.29$, $P<0.0001$], which suggests there is a low skeletal sensitivity to PTH in advanced renal failure.

Determinants of age- and sex-adjusted BMD Z-scores in the femoral neck and lumbar spine

The associations between the CKD stages and the age- and sex-adjusted Z-scores of BMD are shown in Fig. 3A. A significant trend towards decreased Z-scores with the higher CKD stages was observed for the femoral neck (FN) but not for the lumbar spine (LS). We investigated the association of the Z-scores with the number of achieved K/DOQI guideline target ranges for S-Ca, phosphate, and intact PTH (recommended PTH target ranges were: 35–70, 70–110 and 150–300 pg/mL for CKD stages 3, 4 and 5, respectively). With higher BMDs for both the FN and LS, there was an associated increase in the number of target achievements, although this trend was not statistically significant (Fig. 3B).

To elucidate the significant determinants of the BMD Z-score, we performed a multiple regression analysis that used the S-Ca, phosphate, 25(OH)D, calcitriol, bone ALP, FGF-23, 1-84 PTH, eGFR and BMI as the potential explanatory variables. Common significant

Table 3
Multiple linear regression analysis for bone specific alkaline phosphatase

	β	S.E.	P value
Male			
Log (1-84 PTH)	0.1395	0.0347	<.0001
			$R^2=0.15^*$
Female			
Age	-0.0121	0.0046	0.0104
Log (1-84 PTH)	0.2277	0.0499	<.0001
Postmenopause	0.2346	0.0725	0.0017
			$R^2=0.3^*$

PTH, parathyroid hormone.

* R^2 for degree of freedom.

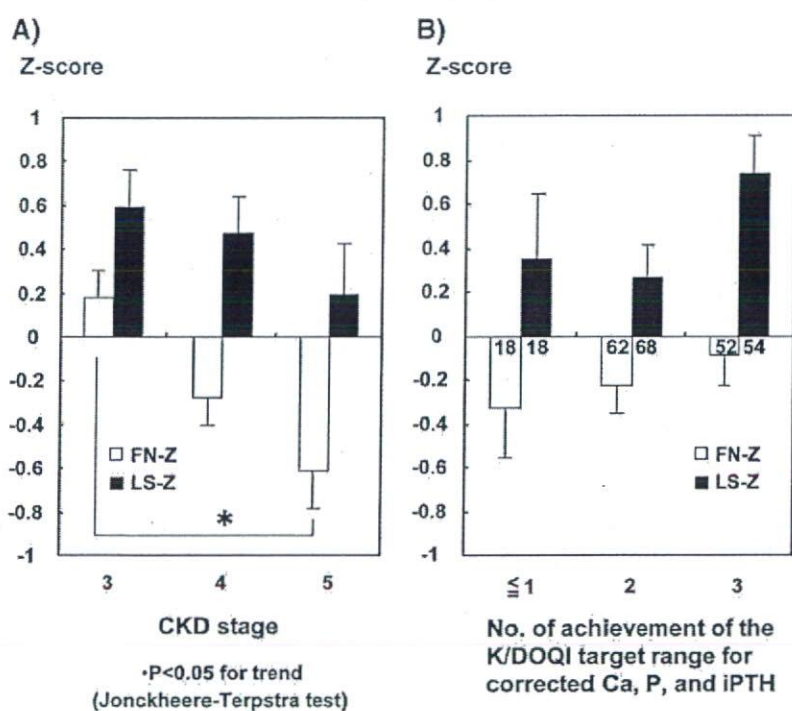


Fig. 3. Changes of age- and sex-adjusted Z-scores at the femoral neck (FN) and lumbar spine (LS) across the CKD stages (A), and across the achieved K/DOQI guideline recommended target ranges for calcium, phosphate and intact PTH (B). In (A) and (B), we observed a tendency for negative and positive associations. However, this significant trend was only observed between the FN-Z and CKD stages. P: serum phosphate, K/DOQI: Kidney Disease Outcome Quality Initiative, FN-Z: BMD Z-score at the femoral neck, LS-Z: BMD Z-score at the lumbar spine, CKD: chronic kidney disease.

positive determinants of BMD at both sites were 25(OH)D and BMI, whereas bone ALP was the common negative determinant. The estimated GFR was a significant positive determinant of BMD only at the FN, which is rich in cortical bone (Table 4). However, there was no significant correlation found between the BMD Z-score and calcitriol, 1-84 PTH, or FGF-23.

To further investigate the correlation between the BMD Z-score and these independent BMD determinants, we divided the subjects into tertiles based on 25(OH)D, bone ALP, and BMI. We then classified the subjects into nine categories based on the tertile combinations that consisted of 25(OH)D and bone ALP or the tertiles of 25(OH)D and BMI (Fig. 4). A gradual increase in the BMD Z-scores was observed when there was higher 25(OH)D and lower bone ALP or higher BMI. Unexpectedly, when compared to the other groups that had the lowest 25(OH)D tertile, the BMDs at both sites were lower in the group that had the lowest tertiles for bone ALP and 25(OH)D (the LL group) (Fig. 4). Moreover, in the LL group, the 1-84 PTH level was the lowest among all of the nine groups (data not shown).

Discussion

In our study, after adjusting for S-Ca, eGFR, and FGF-23, a multivariate analysis indicated there was a negative association for 25(OH)D with 1-84 PTH and a positive association for calcitriol with 1-84 PTH [24]. We also found that 25(OH)D was a positive determinant of the BMD Z-score in addition to BMI and bone ALP for both the LS and FN, whereas neither serum calcitriol nor FGF-23 exhibited any association with BMD.

In addition to the negative association noted for 25(OH)D with 1-84 PTH, our univariate analysis showed that 25(OH)D but not calcitriol exhibited a negative correlation with bone ALP, which is a marker of bone turnover in CKD [25]. These data might imply that serum 25(OH)D, but not calcitriol, is a surrogate marker for bone turnover and bone mass in predialysis patients. Our data are reminiscent of a bone biopsy study by Coen et al. in hemodialysis patients [26]. This previous study revealed that serum 25(OH)D was a significant determinant of bone turnover independently of serum calcitriol. Therefore, the direct

Table 4
Multiple linear regression analysis for age- and sex-adjusted BMD Z-score

	FN-Z			LS-Z		
	β	S.E.	P value	β	S.E.	P value
25(OH)D	0.0454	0.0148	0.0026	0.0506	0.0205	0.0147
Log(bone ALP)	-0.5010	0.2056	0.0162	-0.5763	0.2885	0.0477
BMI	0.0744	0.0221	0.0010	0.0667	0.0294	0.0250
eGFR	0.0296	0.0103	0.0049	0.0120	0.0139	0.39 (n.s.)
			$R^2=0.26^*$			$R^2=0.12^*$

FN-Z, age- and sex-adjusted BMD Z-score at the femoral neck; LS-Z, Age- and Sex- Adjusted BMD Z-score at the lumbar spine; S.E., standard error; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; bone ALP, bone specific alkaline phosphatase; BMI, body mass index; eGFR, estimated glomerular filtration rate.

* R^2 for degree of freedom.

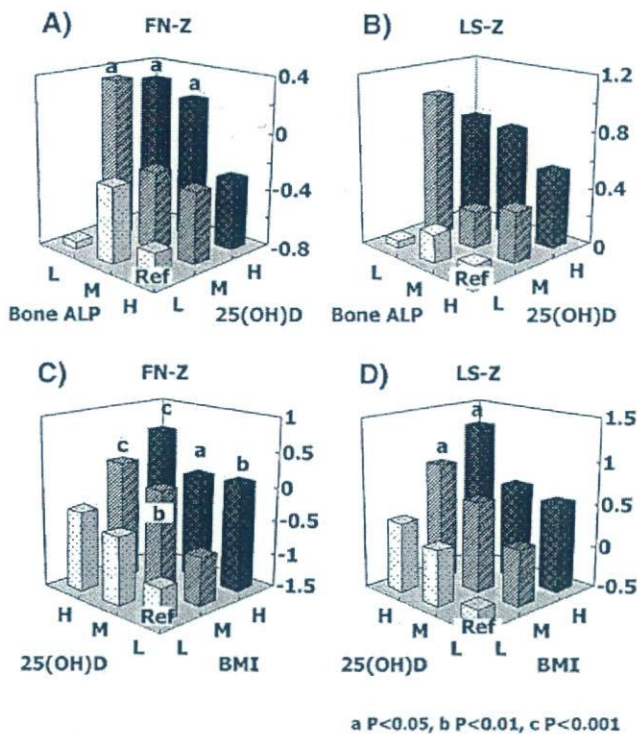


Fig. 4. BMD Z-scores for the nine different tertile combinations for (A, B) 25(OH)D and bone ALP, and (C, D) 25(OH)D and BMI. Patients were categorized and then placed into nine groups based on the tertiles of 25(OH)D, bone ALP, and BMI. The group with the lowest 25(OH)D and highest bone ALP, and the group with lowest 25(OH)D and lowest BMI were used as the reference groups in each figure. H, high; M, middle; L, low. a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, c: $P < 0.001$ as compared with the reference group (Dunnett's test).

action of 25(OH)D on bone metabolism through auto/paracrine actions in osteoblast might explain the mechanism for the association of 25(OH)D and bone turnover [27].

One of the limitations of our study was that it was a cross-sectional observational one, and thus, it was not possible to elucidate the causal relationship. To truly clarify the contribution of 25(OH)D to CKD-MBD, a further longitudinal interventional study with 25(OH)D supplementation is required. While Ziyad Al-aly et al. performed a retrospective study that followed this format [28], they did not have data with regard to changes in BMD or in bone turnover markers when administering ergocalciferol to predialysis patients. Hernandez et al. reported that administration of ergocalciferol completely improved the clinical symptoms associated with osteomalacia in a young hemodialysis patient, despite discontinuation of paricalcitol. In this patient, reduction of PTH and ALP, an increase in BMD, and a remarkable improvement in the overall bone histology were observed [29]. The findings of their case report are in agreement with our current cross-sectional study.

Intriguingly, in our study, a multivariate analysis showed that 1-84 PTH was positively associated with calcitriol even in the late stages of CKD. This result is compatible with the physiological role of PTH, which upregulates 1α -hydroxylase in the proximal tubules [30]. In fact, in primary hyperparathyroidism, serum calcitriol levels are usually high because of this unregulated, elevated hormone [31]. However, in CKD patients, 1-84 PTH fails to upregulate 1α -hydroxylase enough, because of the reduced number of viable nephrons. In hemodialysis patients, the phosphate load is roughly reflected in the serum phosphate levels, and the serum phosphate levels are positively correlated with 1-84 PTH [32]. As in the multivariate model that did not include FGF-23, this positive association also applies to the predialysis patients. However, after adjustment for FGF-23, the positive association of phosphate with

1-84 PTH was extinguished. Given that FGF-23 is also upregulated by the oral phosphate load [2,32,33], our results imply that 1-84 PTH can be upregulated not only by serum phosphate but also by the phosphate load. Measurement of urinary phosphate or phosphate intake would likely have revealed this, but we did not measure these levels, which is another limitation of our study. Acute injections of recombinant FGF-23 was shown to reduce PTH in rats without renal failure [34]. However, we did not observe a negative association between PTH and FGF-23. The main reason for this might be that PTH, in turn, can upregulate FGF-23 [18]. High PTH even under the condition of extremely high levels of FGF-23 could be attributed to some FGF-23 resistance of the parathyroid cells due to reduced Klotho expression, which was previously reported in human primary HPT [35].

Diverse difference of the skeletal sensitivity to PTH across the CKD stages might explain the reason for the lack of association between 1-84 PTH and BMD. This difference is possibly due to the down-regulation of the PTH-1 receptor caused by the uremic toxins [36], and is reflected in our finding of a positive association of bone ALP/1-84 PTH with eGFR in the current study. In contrast to osteocalcin, renal function did not interfere with the levels of bone ALP [37]. Moreover, our data showed that the postmenopausal high bone turnover state was also reflected in bone ALP [25]. These should be the main reason why bone ALP not 1-84 PTH is a determinant of BMD Z-score. A recent study has found that in hemodialysis patients, full-length biologically active FGF-23 had no significant correlation with bone mass or bone turnover markers [38]. This observation was also noted in the predialysis CKD patients in the present study.

Among the nine groups based on the 25(OH)D and bone ALP, the mean BMD Z-score was unexpectedly low in the group that exhibited a low bone ALP and low 25(OH)D. In this group, 1-84 PTH was the lowest among all of the nine groups. Thus, the poor response of this anabolic hormone to the low vitamin D status might lead to impaired bone formation, which in turn could lead to the low BMD in this group.

In summary, this study demonstrated the importance of the vitamin D status in non-diabetic CKD-MBD with regard to HPT and BMD. Since the serum calcitriol level itself was the consequence of the regulations by endogenous 1-84 PTH and FGF-23, we propose that it is not the serum calcitriol but its precursor 25(OH)D that should be monitored in predialysis patients.

Conflict of interest statement

None declared.

References

- [1] Slatopolsky E, Caglar S, Gradowska L, Canterbury J, Reiss E, Bricker NS. On the prevention of secondary hyperparathyroidism in experimental chronic renal disease using "proportional reduction" of dietary phosphorus intake. *Kidney Int* 1972;2:147–51.
- [2] Slatopolsky E, Mercado A, Morrison A, Yates J, Klahr S. Inhibitory effects of hypermagnesemia on the renal action of parathyroid hormone. *J Clin Invest* 1976; 58:1273–9.
- [3] Kates DM, Sherrard DJ, Andress DL. Evidence that serum phosphate is independently associated with serum PTH in patients with chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1997;30:809–13.
- [4] Pitts TO, Piraino BH, Mitro R, Chen TC, Segre GV, Greenberg A, et al. Hyperparathyroidism and 1,25-dihydroxyvitamin D deficiency in mild, moderate, and severe renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:876–81.
- [5] Segersten U, Correa P, Hewison M, Hellman P, Dralle H, Carling T, et al. 25-hydroxyvitamin D(3)-1 α -hydroxylase expression in normal and pathological parathyroid glands. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2967–72.
- [6] Lundgren S, Carling T, Hjalmar G, Juhlin C, Rastad J, Pihlgren U, et al. Tissue distribution of human gp330/megalin, a putative Ca(2+)-sensing protein. *J Histochem Cytochem* 1997;45:383–92.
- [7] Gonzalez EA, Sachdeva A, Oliver DA, Martin KJ. Vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease: a single center observational study. *Am J Nephrol* 2004;24:503–10.
- [8] Gordon CM, DePeter KC, Feldman HA, Grace E, Emans SJ. Prevalence of vitamin D deficiency among healthy adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004;158: 531–7.
- [9] K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003;42:51–201.

- [10] Yan L, Zhou B, Wang X, D'Ath S, Laidlaw A, Laskey MA, Prentice A. Older people in China and the United Kingdom differ in the relationships among parathyroid hormone, vitamin D, and bone mineral status. *Bone* 2003;33:620–7.
- [11] Aloia JF, Talwar SA, Pollack S, Feuerman M, Yeh JK. Optimal vitamin D status and serum parathyroid hormone concentrations in African American women. *Am J Clin Nutr* 2006;84:602–9.
- [12] Nakamura K, Nashimoto M, Tsuchiya Y, Saito T, Nishiwaki T, Ueno K, et al. Threshold value of serum 25-hydroxyvitamin D concentration in relation to elevated serum parathyroid hormone concentrations in elderly Japanese women. *J Bone Miner Metab* 2006;24:395–400.
- [13] Nakamura K, Tsugawa N, Saito T, Ishikawa M, Tsuchiya Y, Hyodo K, et al. Vitamin D status, bone mass, and bone metabolism in home-dwelling postmenopausal Japanese women: Yokogoshi study. *Bone* 2008;42:271–7.
- [14] Stavroulopoulos A, Cassidy MJ, Porter CJ, Hosking DJ, Roe SD. Vitamin D status in renal transplant recipients. *Am J Transp* 2007;7:2546–52.
- [15] Kazama JJ, Omori T, Ei I, Ei K, Oda M, Maruyama H, et al. Circulating 1–84 PTH and large C-terminal PTH fragment levels in uremia. *Clin Exp Nephrol* 2003;7:144–9.
- [16] Kurajoh M, Inaba M, Yamada S, Imanishi Y, Tsuchida T, Ishimura E, et al. Association of increased active PTH(1–84) fraction with decreased GFR and serum Ca in predialysis CRF patients: modulation by serum 25-OH-D. *Osteoporos Int* 2008;19:709–16.
- [17] Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, Muto T, Hino R, Takeuchi Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429–35.
- [18] Kawata T, Imanishi Y, Kobayashi K, Miki T, Arnold A, Inaba M, et al. Parathyroid hormone regulates fibroblast growth factor-23 in a mouse model of primary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:2683–8.
- [19] Wang H, Yoshiko Y, Yamamoto R, Minamizaki T, Kozai K, Tanne K, et al. Overexpression of fibroblast growth factor 23 suppresses osteoblast differentiation and matrix mineralization in vitro. *J Bone Miner Res* 2008;23(6):939–48.
- [20] Krakauer JC, McKenna MJ, Buderer NF, Rao DS, Whitehouse FW, Parfitt AM. Bone loss and bone turnover in diabetes. *Diabetes* 1995;44:775–82.
- [21] Fujii H, Hamada Y, Fukagawa M. Bone formation in spontaneously diabetic Torii-newly established model of non-obese type 2 diabetes rats. *Bone* 2008;42:372–9.
- [22] Payne RB, Little AJ, Williams RB, Milner JR. Interpretation of serum calcium in patients with abnormal serum proteins. *Br Med J* 1973;4:643–6.
- [23] Imai E, Horio M, Niita K, Yamagata K, Iseki K, Tsukamoto Y, et al. Modification of the modification of diet in renal disease (mdrd) study equation for Japan. *Am J Kidney Dis* 2007;50:927–37.
- [24] Shimada T, Mizutani S, Muto T, Yoneya T, Hino R, Takeda S, et al. Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:6500–5.
- [25] Urena P, Hruby M, Ferreira A, Ang KS, de Vernejoul MC. Plasma total versus bone alkaline phosphatase as markers of bone turnover in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:506–12.
- [26] Coen G, Mantella D, Manni M, Balducci A, Nofroni I, Sardella D, et al. 25-hydroxyvitamin D levels and bone histomorphometry in hemodialysis renal osteodystrophy. *Kidney Int* 2005;68:1840–8.
- [27] van Driel M, Koedam M, Buurman CJ, Hewison M, Chiba H, Uitterlinden AG, et al. Evidence for auto/paracrine actions of vitamin D in bone: 1 α -hydroxylase expression and activity in human bone cells. *FASEB J* 2006;20:2417–9.
- [28] Al-Aly Z, Qazi RA, Gonzalez EA, Zeringue A, Martin KJ. Changes in serum 25-hydroxyvitamin D and plasma intact PTH levels following treatment with ergocalciferol in patients with CKD. *Am J Kidney Dis* 2007;50:59–68.
- [29] Hernandez JD, Wesseling K, Boechat MI, Gales B, Salusky JB. Osteomalacia in a hemodialysis patient receiving an active vitamin D sterol. *Nat Clin Pract Nephrol* 2007;3:227–32.
- [30] Booth BE, Tsai HC, Morris Jr RC. Vitamin D status regulates 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase and its responsiveness to parathyroid hormone in the chick. *J Clin Invest* 1985;75:155–61.
- [31] Need AG, Horowitz M, Morris HA, Nordin BC. Vitamin D status: effects on parathyroid hormone and 1, 25-dihydroxyvitamin D in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1577–81.
- [32] Ferrari SL, Bonjour JP, Rizzoli R. Fibroblast growth factor-23 relationship to dietary phosphate and renal phosphate handling in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1519–24.
- [33] Antonucci DM, Yamashita T, Portale AA. Dietary phosphorus regulates serum fibroblast growth factor-23 concentrations in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3144–9.
- [34] Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, Goetz R, Kuro-o M, Mohammadi M, et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest* 2007;117:4003–8.
- [35] Bjorklund P, Krajsnik T, Akerstrom G, Westin G, Larsson TE. Type I membrane klotho expression is decreased and inversely correlated to serum calcium in primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(10):4152–7.
- [36] Nii-Kono T, Iwasaki Y, Uchida M, Fujieda A, Hosokawa A, Motojima M, et al. Indoxyl sulfate induces skeletal resistance to parathyroid hormone in cultured osteoblastic cells. *Kidney Int* 2007;71:738–43.
- [37] Yamada S, Inaba M, Kurajoh M, Shidara K, Imanishi Y, Ishimura E, et al. Utility of serum tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP5b) as a bone resorption marker in patients with chronic kidney disease: independence from renal dysfunction. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008;69(2):189–96.
- [38] Urena Torres P, Friedlander G, de Vernejoul MC, Silve C, Prie D. Bone mass does not correlate with the serum fibroblast growth factor 23 in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2008;73:102–7.