

図5. ピオグリタゾン投与におけるアディポカインの変化

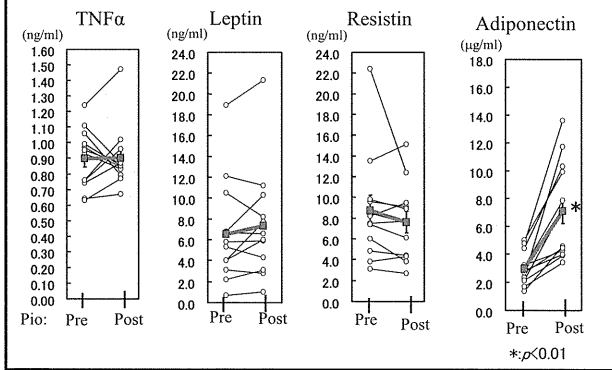


図6. ピオグリタゾン投与におけるアディポネクチン多量体の変化

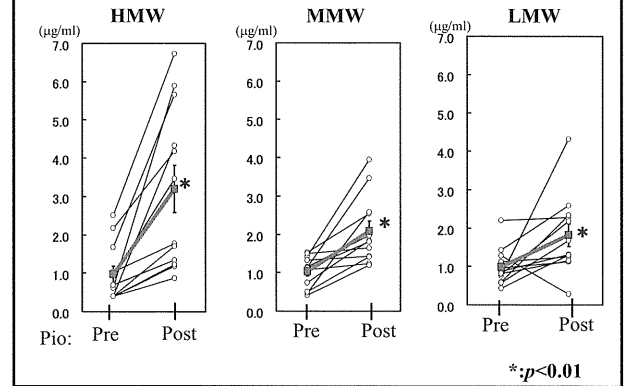
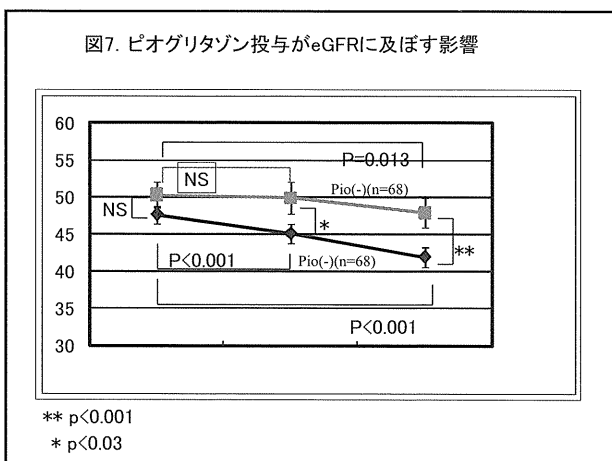


図7. ピオグリタゾン投与がeGFRに及ぼす影響



# 厚生労働省科学研究費補助金（腎疾患対策事業）

## 総合研究報告書

### 糖尿病性腎症の病態解明と新規治療法確立のための評価法の開発

研究分担者

鈴木 芳樹 新潟大学保健管理センター

#### A. 研究目的

糖尿病性腎症例を対象とした予後、合併症、治療に関する観察研究を目的とする。そのために、全体研究として“糖尿病性腎症症例のレジストリー（JDNCs）”を作成して新規症例を登録する。また、個別研究として“糖尿病性腎症の病期分類ならびに病態の解析”のために、事前登録前向き研究を行う。

#### B. 研究方法

20歳以上の腎症発症前の症例および糖尿病性腎症第1期から第5期の症例を対象とする前向き研究（JDNCs）を作成し、新規に症例を登録する。事前登録前向き研究には、既存データを用いて参加する。

（倫理面への配慮）

JDNCs に関しては、文書により同意を取得する。被験者により同意の撤回があった場合、その他主治医が試験続行困難と判断した場合は、その症例の試験を中止する。事前登録前向き研究に関しては、全ての被験者に説明と同意を取得することは困難であるため、内科外来に趣旨説明と拒否する場合には文書で申告できる旨の文書を掲示した。いずれも新潟大学医学部倫理審査委員会と新潟大学利益相反マネジメント委員会の承認を得て実施した。

#### C. 研究結果

平成22年12月末で、JDNCs に3症例、事前登録前向き研究に75症例を登録した。前者では、平均年齢70.7歳、平均糖尿病罹病期間11年、平均eGFR63.0、正常アルブミン尿2例、顕性蛋白尿1例であった。後者では、男性40例女性35例、平均観察開始年齢62.1歳、平均糖尿病罹病期間5年、正常アルブミン尿36例、微量アルブミン尿16例、顕性蛋白尿23例であった。さらに、平成23年度の第2回分科会の合意に基づき、後者の症例のその後の経過を知るために、平成23年8月末で75例中36例の追跡データを収集した。これにより、事前登録前向き研究の症例の平均糖尿病罹病期間は約6年、最長観察症例は約11年となった。このうち2例が死亡し、死因は感染症1例、悪性腫瘍1例であった。

#### D. 考察

JDNCs に登録したのは3症例であったが、今後も十分な期間を追跡できる症例であった。事前登録前向き研究は、既存データを用いるため、観察ポイントの間隔および血清クレアチニン測定値の表示が必ずしも一定ではなかったが、登録症例の腎症病期の分散が適当であり、観察期間の長い症例が多く含まれていた。また、75例中の追跡調査が可能であった36例の多くは、今後も追跡可能な症例であり、さらに長期

的なデータの取得が可能と思われた。

## E. 結論

JDNCS に 3 症例，事前登録前向き研究に 75 症例を登録した。また、後者のうち 36 例について、平成 23 年 8 月末までの追跡データを収集した。全国のデータを集積および解析することにより、糖尿病性腎症の病期分類ならびに病態の解析が可能になった。今後は、両研究に登録した症例の追跡データを可能な範囲で収集することが重要である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) 鈴木芳樹・日本糖尿病学会学術総会  
2011・札幌・糖尿病性腎症合同委員会  
ジョイントシンポジウム
- 2) 鈴木芳樹・日本糖尿病性腎症研究会  
2011・東京・教育講演

## G. 知的所有権の出願・取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

# 厚生労働省科学研究費補助金（腎疾患対策事業）

## 分担研究報告書

—糖尿病性腎症例を対象とした予後，合併症，治療に関する観察研究—

研究分担者

榎野 博史 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学

### 研究要旨

糖尿病性腎症患者の総合的な症例登録システムに登録するために，岡山大学病院に通院している該当患者への説明文書と同意文書を作成した。また，岡山大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会に倫理審査を申請し，承認を得た。平成23年12月31日までに，ウェブ上のシステムに50症例登録し，観察研究を開始している。

### A. 研究目的

糖尿病性腎症（腎症）患者の実態把握，病態の解析および予後改善はいまだ不十分である。腎症例を対象とした予後，合併症，治療に関する観察研究として，全ての病期の腎症の総合的な症例登録システム（レジストリー）を構築することにより，コホートを形成する。適格症例を登録し，経年的な臨床情報を追跡して，腎症に関する以下の項目を評価する。主要評価項目は，蛋白尿・アルブミン尿あるいは糸球体濾過量（GFR）による経時的な腎障害進展，病期別死亡，心血管イベントや腎症以外の糖尿病合併症の発症である。副次的評価項目は，腎機能障害進展に関するリスク因子解析，治療目標達成度である。これらにより，①予後と合併症の実態解析，②早期腎症，病期分類に関する新たな提言，③現在行われている治療，生活指導の効果の評価を目的とする。

### B. 研究方法

20歳以上の腎症発症前の症例および糖尿病性腎症第1期から第5期の症例を対象とする。除外基準は，20歳未満の症例，1型糖尿病の症例，二次性糖尿病の症例（ステロイド投与例，クッシング症候群など），糖尿病性腎症以外の明らかな腎疾患を有する場合である。岡山大学病院（腎臓・糖尿病・内分泌内科）で実施する。

（倫理面への配慮）

人権および個人情報については，GCP，ヘルシンキ宣言，臨床研究に関する倫理指針に準拠する。主任研究者は，患者から試験参加の同意を得るために用いる説明文書及び同意文書を作成する。また，被験者の同意に関連し得る新たな情報を入手した場合等，説明文書及び同意文書を改訂する必要があると認めた場合は，これらを改訂する。被験者により同意の撤回があった場合，その他主治医が試験続行困難と判断した場合は，その症例の試験を中止する。患者の個人情報は，研究症例番号により連結可能匿名化する。登録の際に使

用する対応表は、情報登録の終了後は専用キャビネットにて施錠して保管する。

## C. 研究結果

研究のための症例登録のために、患者への説明文書と同意文書を作成した。また、症例登録システムの運用を開始し、平成 23 年 12 月 31 日までに 50 症例の登録を行った。

## D. 考察

登録するための腎症患者は、当該診療科である岡山大学病院内科外来（腎臓・糖尿病・内分泌内科）では、第 1 期から第 5 期までの患者を診療対象としている。今後は、選択基準に該当する症例の中から、十分な説明を行って同意を得て、また、他の臨床研究とも重複しないように、さらに新規症例を登録する予定である。

## E. 結論

腎症患者の総合的な症例登録システムに登録するために、患者への説明文書と同意文書を作成した。また、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会に倫理審査を申請し承認を得た。今後は、ウェブ上のシステムに該当症例を新規登録するとともに、本学の関連施設にも本システムを周知して新規登録を推進する。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 小川大輔, 槇野博史: INNOVATION. 小川聡編: DATA UPDATE (循環系 第4版). 先端医学社 (東京) pp. 270-271, 2009
- 2) 小川大輔, 槇野博史: INNOVATION. 松岡博昭編: 日本臨床 増刊号 高血圧(第

4版) 下. 日本臨床社 (東京) pp. 673-676, 2009

- 3) Shikata K, Haneda M, Koya D, Suzuki Y, Tomino Y, Yamada K, Maeda S, Kawakami N, Uzu T, Nishimura M, Sato C, Ogawa D, Makino H; DNETT-Japan Study Group. Diabetic Nephropathy Remission and Regression Team Trial in Japan (DNETT-Japan): Rationale and study design. *Diabetes Res Clin Pract.* 87:228-232, 2010
- 4) 小川大輔, 槇野博史: 糖尿病腎症のエビデンス. 門脇孝編: 糖尿病ナビゲーター (第2版). メディカルレビュー社 (東京) pp. 300-301, 2010
- 5) Ogawa D, Kahara K, Shigematsu T, Fujii S, Hayakawa N, Okazaki M, Makino H. Optimal cutoff point of waist circumference for the diagnosis of metabolic syndrome in Japanese subjects. *J Diabetes Invest.* 1:117-120, 2010
- 6) Ogawa D, Asanuma M, Miyazaki I, Tachibana H, Wada J, Sogawa N, Sugaya T, Kitamura S, Maeshima Y, Shikata K, Makino H. High glucose increases metallothionein expression in renal proximal tubular epithelial cells. *Exp Diabetes Res.* 2011. 534872, 2011.
- 7) Matsushita Y, Ogawa D, Wada J, Yamamoto N, Shikata K, Sato C, Tachibana H, Toyota N, Makino H. Activation of peroxisomeproliferator-activated receptor delta inhibits streptozotocin-induced diabetic nephropathy through anti-inflammatory mechanisms in mice. *Diabetes.* 60:960-968, 2011

8) Kido Y, Ogawa D, Shikata K, Sasaki M, Nagase R, Okada S, Usui Kataoka HU, Wada J, Makino H. Intercellular adhesion molecule-1 plays a critical role in glomerulosclerosis after subtotal nephrectomy. Clin Exp Nephrol. 15:212-219, 2011.

9) 小川大輔, 槇野博史: 糖尿病における腎臓病・CKDの診断・検査法. 門脇孝編: 糖尿病診療ガイド. 南山堂(東京) pp. 145-148, 2011

## 2. 学会発表

1) 松下裕一、小川大輔、橘洋美、豊田智子、佐藤千景、和田淳、四方賢一、槇野博史: PPAR $\delta$  アゴニストは抗炎症効果により糖尿病性腎症の進展を抑制する. 第54回日本糖尿病学会年次学術集会. さっぽろ芸術文化の館(札幌市), 2011

2) 小川大輔、松下裕一、四方賢一、和田淳、佐藤千景、橘洋美、豊田智子、槇野博史: 糖尿病性腎症におけるPPAR $\delta$  アゴニストの腎保護効果. 第54回日本腎臓病学会学術集会. パシフィコ横浜(横浜市), 2011

3) Ogawa D, Wada J, Matsushita Y, Nakatsuka A, Murakami K, Kanzaki M, Shikata K, Makino H. Activation of Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\delta$  Inhibits Streptozotocin-induced Diabetic Nephropathy Through Anti-inflammatory Mechanisms in Mice. Keystone Symposia (Keystone, Colorado, USA)

4) Tachibana H, Ogawa D, Matsushita Y, Yamamoto N, Toyota N, Sato C, Wada J, Shikata K, Makino H. Activation of Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\delta$  Inhibits

Streptozotocin-induced Diabetic Nephropathy Through Anti-inflammatory Mechanisms in Mice. American Diabetes Association 71st Scientific Sessions (San Diego, California, USA) 2011. 6. 24-6. 28

## G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

# 厚生労働省科学研究費補助金（腎疾患対策事業）

## 総合研究報告書

### 糖尿病性腎症の地域格差に関する研究

研究協力者

井関 邦敏 琉球大学医学部附属病院血液浄化療法部

#### 研究要旨：

沖縄県の透析患者数は人口100万人対で約3,000人であり、全国平均の2,280人を大きく上回っている。透析患者数が全国平均並みである茨城県に比し、肥満者、高血圧者が多く特にGFR<45ml/min/1.73m<sup>2</sup>で両県の差異が顕著であった。CKDの発見の遅れおよび不十分な治療が透析患者数多発の要因と考えられる。沖縄県内の糖尿病専門クリニックである田仲医院（田仲秀明院長）の協力をえて867名の糖尿病患者を登録し、予後を追跡している。全員、初診時の血清クレアチニン（eGFR）、微量アルブミン尿および検尿を測定している。2005年度に登録を開始し、現在、予後（生死、透析導入）を追跡している。対照群として非DM-CKD患者の動向を検討している。また国際比較研究としてKDIGOおよび AFCKDIにも参加し、人種差および生活習慣の影響を検討している。

#### A. 研究目的

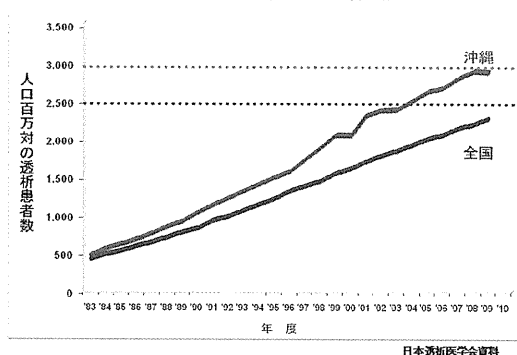
日本透析医学会の統計調査委員会の現況報告で明らかな慢性透析患者の多発地域である。沖縄県においてその発症要因について沖縄県内の糖尿病患者コホートの調査分析および他地域と比較を通じて検討する。

対照群として非DM-CKD患者のコホート調査も徳山クリニック、なかむらクリニックおよび浦添総合病院健診センターの協力を得て実施している（浦添モデル）。また過去40年（1971-2010年）にわたる沖縄県内の慢性透析患者データベース（沖縄透析研究、OKIDS）も利用する。

糖尿病の早期発見を目的として県内で実施されている各種の健診事業（特定健診、国保連合会、協会健保および沖縄県総合保健協会、人間ドック）より許可をえて断面調査および追跡調査を実施している。

人種差および地域差を検討する一環として世界的なメタ解析（CKD prognosis consortium）にも参加している。

年度末患者数の推移



#### B. 研究方法

2005年の開業以来の田仲クリニック（田仲秀明院長）の糖尿病患者867名の基礎データを収集し、eGFRおよび微量アルブミン尿、蛋白尿別に生命予後および透析導入の有無を追跡する。

浦添モデルおよび OKIDS 登録患者の予後も追跡する。かかりつけ医と腎臓専門医の連携および栄養指導などを通じて CKD の重症化予防のための戦略研究（主任研究者：山縣教授）にも沖縄県内で 4 地区医師会（中部、浦添、那覇、南部）が参加し 230 名の患者が登録されている。

CKD prognosis consortium には 1993 年度および 2003 年度の沖縄県総合保健協会の住民健診データを登録している。現在、白人、黒人、およびその他（アジア人）というカテゴリーで検討が進められている。アジア内での詳細な検討（インド、中国、韓国、日本）は日本腎臓学会が中心となって Asian Forum of CKD Initiative (AFCKDI) を組織し、全アジアの CKD 登録事業（Pan Asian CKD registry）が進められている。

（倫理面への配慮）本研究はヘルシンキ宣言（2008年改訂版）に基づく倫理的原則、並びに本研究実施計画書、臨床研究に関する倫理指針、「臨床研究に関する倫理指針」（平成20年厚生労働省告示第415号）を遵守して実施する。個人の特定ができない数値化されたデータベースを用いる。また各大学倫理委員会、および当該医療機関による審査、承認の後、実施する。連結可能匿名化データのみ使用する。結果は各協力機関にも県内の各種研究会および沖縄県人工透析研究会にて報告する。

## C. 研究結果

2005～2007年度に田仲医院にて登録された糖尿病患者867例の平均年齢は59.1才、男性58.4%、BMI26.6kg/m<sup>2</sup>、血圧（128.8/74.3mmHg）、eGFR

76.2ml/min/1.73/m<sup>2</sup>、尿酸5.3mg/dl、HbA1c 7.5%、アルブミン尿32.8mg/gクレアチニンであった。

浦添モデルにて肥満度、メタボリック症候群および微量アルブミン尿測定を行い、他の地域と比較検討している。いずれも高頻度であることが判明している。

## D. 考察

2009年度のKDIGOでCKDの分類の基礎となったメタ解析には我々のコホートも参加している。eGFRに加えて蛋白尿の有無を加えることが提案された。現在、世界各国の実情にあった適応策が検討されている。今後は、CKDの構成要素である蛋白尿有無と eGFR レベル別に生活習慣病、CVDの発症率、死亡率に対する寄与度とその寄与度に影響を与える諸因子を検討する必要がある。また腎機能低下と尿蛋白の変化に対する諸因子の寄与度とそれに対する影響因子、蛋白尿と eGFR 測定の意義と限界、経済性、および特定保健指導のCKD、CVDと生活習慣病の発症・経過への効果の解明が期待される。住民健診によるコホートと専門医療機関のコホートでは予後が異なることが考えられる。

これまでの研究結果より ESRD は多くの病因、生活習慣、社会・経済的要因、治療コンプライアンス、医療体制などが複雑に関連して発生していると考えられる（図）。



## 沖縄 (日本) に透析患者が多い理由

1. 遺伝要因  
低身長、低筋肉量、低ネフロン数  
心血管障害発症後の高い生存率
2. 環境要因  
肥満、メタボリック症候群  
薬物: NSAIDs、抗生物質、造影剤
3. 社会的要因  
導入率(透析施設、導入基準など)  
  
地域差、性差の要因?

Iseki K. *Nephron Clinical Practice* 110; 268-272, 2008  
Iseki K. *Kidney Int* 74; 415-417, 2008

## E. 結論

沖縄県はDMによる透析導入が多い。かかりつけ医と腎臓専門医の連携強化によりCKDの早期発見、治療の徹底が図られれば、少なくとも手遅れ症例 (late referral) は減少し、透析導入患者の減少 (増加傾向の鈍化) が達成されると期待できる。今後も引き続き糖尿病専門クリニックの協力を得て基礎資料の収集を行う必要がある。

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

1. Iseki K, Horio M, Imai E, Matsuo S, and Yamagata K. Geographic difference in prevalence of chronic kidney disease among Japanese screened subjects: Ibaraki vs. Okinawa. *Clin Exp Nephrol* 13:44-49, 2009
2. Imai E, Horio M, Watanabe T, Iseki K, Yamagata K, Hara S, Ura N, Kiyohara Y, Moriyama T, Ando Y, Fujimoto S, Konta T, Yokoyama H, Makino H, Hishida A, and Matsuo S. Prevalence of chronic kidney disease (CKD) in Japanese general population. *Clin Exp*

*Nephrol* 13: 621-630, 2009

3. Yamagata K, Makino H, Akizawa T, Iseki K, Itoh S, Kimura K, Koya D, Narita I, Mitarai T, Miyazaki M, Tsubakihara Y, Watanabe T, Wada T, Sakai O, and Advisory Committee for FROM-J. Design and methods of a strategic outcome study for chronic kidney disease - Frontier of Renal Outcome Modifications in Japan (FROM-J) - *Clin Exp Nephrol* 14; 144-151, 2010
4. Iseki K. Renal outcomes in chronic kidney disease. *Nephrology* 15: S273-S276, 2010
5. Iseki K, Chiho Iseki, and Kozen Kinjo. C-reactive protein is a predictor for developing proteinuria in a screened cohort. *Nephron Clin Pract* 117: C51-C56, 2011
6. Gansvoort RT, Matsushita K, van der Verde M, Astor BC, et al. Lower estimated GFR and higher albuminuria are associated with adverse kidney outcomes in both general and high-risk population: A meta-analysis of general and high-risk population cohorts. *Kidney Int* 80 : 93-104, 2011 Feb 2 (Epub)
7. Iseki K. Editorials. Role of chronic kidney disease in cardiovascular disease: are we different from others? *Clin Exp Nephrol* 15:450-455, 2011
8. Iseki K, Chiho Iseki, and Kozen Kinjo. C-reactive protein is a predictor for developing proteinuria in a screened

- cohort. *Nephron Clin Pract* 117: C51-C56, 2011
9. Ichikawa K, Konta T, Ikeda A, Fujimoto S, Iseki K, Moriyama T, Yamagata K, Tsuruya K, Yoshida H, Asahi K, Kurahashi I, Ohashi Y, Watanabe T. Significance of past history of kidney disease for the detection of individuals with high-risk chronic kidney disease: analysis of data from a nationwide cohort. *Clin Exp Nephrol* 2012 (in press)
  10. Yano Y, Fujimoto S, Sato Y, Konta T, Iseki K, Moriyama T, Yamagata K, Tsuruya K, Yoshida H, Asahi K, Kurahashi I, Ohashi Y, Watanabe T. Association between prehypertension and chronic kidney disease in Japanese general population. *Kidney Int* (2012 in press)
  11. Iseki K, Moriyama T, Yamagata K, Tsuruya K, Yoshida H, Fujimoto S, Konta T, Asahi K, Ohashi Y, and Watanabe T. Risk factor profiles based on eGFR and dipstick proteinuria: Analysis of the participants of the Specific Health Check and Guidance System in Japan 2008. *Clin Exp Nephrol* (2012, in press)
  12. Tsuneo Konta, Kazunobu Ichikawa, Ami Ikeda, Shouichi Fujimoto, Kunitoshi Iseki, Toshiki Moriyama, Kunihiro Yamagata, Kazuhiko Tsuruya, Hideaki Yoshida, Koichi Asahi, Issei Kurahashi, Yasuo Ohashi, Tsuyoshi Watanabe. Blood pressure control in a Japanese population with chronic kidney disease: A baseline survey of a nationwide cohort. *Am J Hypertens* (2012 in press)
  13. Masahide Kondo, Kunihiro Yamagata, Shu-Ling Hoshi, Chie Saito, Koichi Asahi, Toshiki Moriyama, Kazuhiko Tsuruya, Hideaki Yoshida, Kunitoshi Iseki, Tsuyoshi Watanabe, and on behalf of the Japanese Society of Nephrology Task Force for the Validation of Urine Examination as a Universal Screening. Cost-effectiveness of chronic kidney disease mass screening test in Japan. *Clin Exp Nephrol* (2012 in press)
- 2) 学会発表
1. 4<sup>th</sup> AFCKDI. Iseki K. Pan Asian CKD registry: Background and Japanese CKD registry. 2010, 6/4 Seoul
  2. APCN2010. Iseki K. Chronic kidney disease: from early prediction to current facts. 2010, 6/5 Seoul
  3. KDIGO Controversies Conference: CKD and CVD. 2010, 10/29 London
  4. 2011, 3/4 ISHD2011 Delhi, India: “*Dialysis in Japan*”
  5. 2011, 3/18 5<sup>th</sup> AFCKDI. Guangzhou, China “*Pan Asian CKD Registry-Background*”
  6. 2012, 2/27 ADC2012. San Antonio, TX, “*Debate: HD outcomes in Japan is “superior” due to greater dialysis dosage*”
  7. 2012, 2/28 ADC2012. “*Does hybrid dialysis (combined*

*PD+HD) improve outcomes? :  
Japanese experiences”*

8. 2012, 2/24 6<sup>th</sup> AFCKDI.  
Chandigarh, India  
“Establishing CKD Registry in  
Asia: dream or reality?”
9. 2012, 6/27 1<sup>st</sup> World  
Renal Nutrition Week, Honolulu  
“Body size in health and kidney  
disease: *Is bad really gone  
good*”

## 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

# 厚生労働省科学研究費補助金（腎疾患対策事業）

## 総合研究報告書

### 糖尿病性腎症の病態解明と新規治療法確立のための評価法の開発

協力研究者

二宮 利治 九州大学病院 腎高血圧脳血管内科・助教

**研究要旨** 平成5年に福岡県久山町循環器病健診を受診した40歳以上の住民2,155名に、75g糖負荷試験を行い糖尿病の診断を行い、210名を糖尿病と診断した。この糖尿病患者210例において、平成22年度に5年間の追跡データを構築し、平成23年度に10年間の追跡データを構築した。追跡期間中に43名が死亡した。さらに、透析導入2名、脳出血6名、脳梗塞13名、心筋梗塞11名の発症を認めた。これらの患者個別のデータは研究事務局に提出され、統合研究に使用された。

#### A. 研究目的

日本透析医学会統計調査委員会の成績によると、わが国における透析導入患者の主要原疾患は、平成10年以降糖尿病性腎症が第1位となっている。そのため、わが国の慢性腎臓病対策において糖尿病性腎症対策は重要な課題の一つである。

本研究では、日本各地で行われている糖尿病患者の追跡研究の統合データを用いて、糖尿病患者における糸球体濾過量値とアルブミン尿のそれぞれが糖尿病腎症発症や進行、また心血管病発症に及ぼす影響を評価することが目的である。そこで我々は、福岡県久山町住民における糖尿病患者の追跡データの収集を行った。

#### B. 研究方法

平成5年に福岡県久山町循環器病健診を受診した40歳以上の住民2,155名に、75g糖負荷試験を行い糖尿病の診断を行った。

1)空腹時血糖 $\geq 126$  mg/dl, 2)食後2時間以後の血糖 $\geq 200$  mg/dl, 3)血糖降下薬使用の有無のいずれかに該当する場合を糖尿病と診断した。エンドポイントは、総死亡、透析導入、脳卒中、心筋梗塞とした。さらに、追跡開始時及び追跡期間中の血清クレアチニン値、尿中アルブミン：クレアチニン値の測定を行い、腎機能低下及びアルブミン尿の発症及び進行の評価を行った。

(倫理面の配慮)

本研究は、「疫学研究に関する倫理指針」に基づき研究計画書を作成し、九州大学医学部倫理委員会の承認を得て行われた。本研究は、すべての対象者からインフォームドコンセントを取得したうえで実施した。研究者は、対象者の個人情報漏洩を防ぐうえで細心の注意を払い、その管理に責任を負っている。

## C. 研究結果

本研究事業には平成 22 年度より参加した。1993 年の健診受診者 2155 名のうち、210 名を糖尿病と診断した。平成 22 年度はこの糖尿病患者 210 例における 5 年間の追跡データを構築した。追跡期間中に 21 名が死亡し、透析導入 1 名、脳出血 2 名、脳梗塞 6 名、心筋梗塞 7 名の発症を認めた。これらの患者個別のデータを研究事務局に提出した。

しかしながら、統合研究における評価項目の発症数が解析に必要な数に達しなかったため、平成 23 年度は追跡期間をさらに 5 年間延長し、計 10 年間の追跡データを構築した。10 年間に 43 名が死亡した。さらに、透析導入 2 名、脳出血 6 名、脳梗塞 13 名、心筋梗塞 11 名の発症を認めた。これらの患者個別のデータは統合研究に使用された。

## D. 考察

わが国では、糖尿病の増加に伴い末

期腎不全患者が増え続けている。末期腎不全患者は、長期の治療継続と経済的負担を要する上に、心血管病などの合併症を発症するリスクが高いことから、医療問題に与える影響は多大である。本研究によって、糖尿病腎症の早期評価法が確立され、その成果は、糖尿病性腎症の病態解明と治療法の飛躍的進歩とともに、末期腎不全や心血管病発症の予防手段の確立につながることを期待される。

## E. 結論

糖尿病患者 210 名の 10 年間の追跡データを作成した。これらの患者個別のデータは、統合研究に使用された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Jardine MJ, Ninomiya T, Perkovic V, Cass A, Turnbull F, Gallagher MP, Zoungas S, Heerspink HJL, Chalmers J, Zanchetti A. Aspirin is beneficial in hypertensive patients with chronic kidney disease a post-hoc subgroup analysis of a randomized controlled trial. *J Am Coll Cardiol* 56: 956-65, 2010
2. Heerspink HJL, Ninomiya T, Perkovic V, Woodward M, Zoungas S, Cass A, Cooper M, Grobbee DE, Mancia G, Mogensen CE, Neal B, Chalmers J; for the ADVANCE Collaborative Group. Effects of a fixed combination

- of perindopril and indapamide in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. Eur Heart J 31: 2888-96, 2010
3. Ninomiya T, Zoungas S, Neal B, Woodward M, Patel A, Perkovic V, Cass A, Cooper M, Grobbee D, Hamet P, Harrap S, Liu L, Mancia G, Mogensen CE, Poulter N, Rodgers A, Williams B, MacMahon S, Chalmers J; ADVANCE Collaborative Group. Efficacy and safety of routine blood pressure lowering in older patients with diabetes: results from the ADVANCE trial. J Hypertens 28: 1141-9, 2010
  4. Jun M, Heerspink HJL, Ninomiya T, Gallagher M, Bellomo R, Myburgh J, Finfer S, Palevsky PM, Kellum JA, Perkovic V, Cass A. Intensities of renal replacement therapy in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. Clin J Am Soc Nephrol 5: 956-63, 2010
  5. Nagata M, Ninomiya T, Doi Y, Yonemoto K, Kubo M, Hata J, Tsuruya K, Iida M, Kiyohara Y. Trends in the prevalence of chronic kidney disease and its risk factors in a general Japanese population: the Hisayama Study. Nephrol Dial Transplant 25: 2557-64, 2010
2. 学会発表
    1. Ninomiya T, Kiyohara Y, Tokuda Y, Doi Y, Arima H, Harada A, Ohashi Y, Ueshima H. Impact of kidney disease and blood pressure on the development of cardiovascular disease: Results from the Japan Arteriosclerosis Longitudinal Study. The 15th World Congress of Heart Disease, Vancouver, Canada. July 26, 2010
    2. Ninomiya T, Heerspink HJL, Perkovic V, Zoungas S, Patel A, Grobbee D, Harrap S, Heller S, Cooper M, MacMahon S, Mancia G, Marre M, Neal B, Woodward M, Chalmers J. The fixed combination of perindopril and indapamide has a greater effect on cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and albuminuria. ISN Nexus Symposium Kyoto 2010, Kyoto, Japan, April 16, 2010
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得 なし
  2. 実用新案登録 なし

# 厚生労働省科学研究費補助金（腎疾患対策事業）

## 総合研究報告書

### 「糖尿病性腎症の病期分類ならびに病態の解析」に関する研究

研究協力者

守屋 達美 北里大学医学部内分泌代謝内科学

#### 研究要旨

糖尿病性腎症（腎症）は慢性腎臓病(CKD)の最大の原因疾患である。しかし、腎症病期分類と現行の CKD stage 分類には整合性がみられない。本研究では、新たな病期分類の提言の一助として、腎症 1～2 期でありながら、CKD stage 3 以降に分類される患者の腎組織が典型的な腎症と異なるか否かの検討を行う。多施設における腎生検組織を現在検討中である。

#### A. 研究目的

腎生検で糖尿病性腎症（腎症）が確定した欧米人 1 型糖尿病正常アルブミン尿期の GFR が正常以下に減少している例（すべてが CKD とは限らない）は、正常範囲の GFR を示す例に比し、GBM 肥厚およびメサンギウム拡大などの組織病変が高度であったと報告されている (Diabetes 52: 1036-1040, 2003)。しかし、正常アルブミン尿期の CKD の腎組織病変に焦点を当てた報告はない。正常アルブミン尿期糖尿病患者の GFR 60ml/min/1.73m<sup>2</sup> 未満の CKD が腎症か否かを組織学的に検討する。

#### B. 研究方法

すでに経皮的腎生検を施行している正常および微量アルブミン尿の 2 型糖尿病患者の腎生検 PAS 標本を既報 (Diabetologia 39:1569, 1996) の方法に従い、正常例、典型例、非典型例に分類する。現在、糖尿病学会の学術調査研究の申請を

行っており、認められれば下記の施設以外にも拡大して検討する。

（倫理面への配慮）

すでに腎生検を行った組織を使用するため、侵襲はない。

#### C. 研究結果

現在、新潟大学、奈良県立医科大学、秋田大学および北里大学の腎生検例を組織、機能の両面から検討中である。

#### D. 考察

過去に、組織形態計測により正常アルブミン尿期と微量アルブミン尿期の糸球体所見には差がないことを報告 (Nephron., 91(2): 292-299, 2002) したが、今回は組織障害パターンに差異があるかどうかの検討である。

## E. 結論

現在、上記施設の組織学的分類が終了し、今後機能との検討に移る。一定以上の結果がえられた段階で報告する。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Moriya T, et al.: Glomerular hyperfiltration and increased glomerular filtration surface are associated with renal function decline in normo- and microalbuminuric type 2 diabetes. *Kidney Int* doi: 10.1038/ki.2011.404.

### 2. 学会発表

なし

## G. 知的所有権の出願・取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし



【分科会：糖尿病性腎症の評価のためのバイオマーカー開発】

# 厚生労働省科学研究費補助金（腎疾患対策事業）

## 総合研究報告書

### 糖尿病性腎症の病態解明と新規治療法確立のための評価法の開発 に関する研究

研究分担者

湯澤 由紀夫 藤田保健衛生大学医学部腎内科学

#### 研究要旨

本研究の全体研究では、「より早期の診断」・「予後推定」・「治療効果判定」・「新たな病気分類を可能」とするバイオマーカーの探索，及びパネル化モデルの提言を目的としている。今回、和田班全体の研究目標として、「糖尿病性腎症の疾患登録及び尿検体の収集」が掲げられ、本分科会としては、バイオマーカーのソースを尿検体に限定して「尿中アルブミン」をしのぐバイオマーカー群の検索とパネル化モデルの提言を最終目標とする。

平成 21 年度は、全体研究として、「既報の尿バイオマーカー候補群の選定と複数のマーカーを微量な尿サンプルで同時に測定可能なシステム開発」としての臨床研究プロトコルを作成し、臨床研究倫理委員会の承認を得た。既報の尿バイオマーカーは、CCN2, Collagen IV, AGT, MCP-1, L-FABP を最終候補として選定した。平成 22 年度は、全体研究として、微小化学分析システム ( $\mu$ TAS, micro total analysis system) を応用した次世代型の臨床用バイオマーカー測定装置の開発に着手した。平成 23 年度以降は、現在進行中の個別研究（ゲノム・トランスクリプトーム解析、尿中エクソゾーム解析、尿メタボローム解析）により網羅的に検索されたバイオマーカー群及び研究協力者の山本格教授のプロテオーム解析（日本腎臓学会尿バイオマーカー委員会：委員長）から有望なマーカーを 100 種類以内に選定し、最終的には 10 種類以下のマーカー群に絞り込む。同時に現在開発中の多因子を同時に検索可能な新たなアッセイ系プラットフォームにこれらの候補マーカー群を導入し、既報のマーカーに網羅的に検索されたバイオマーカー群を加えた、新たなパネル化モデルを作成した。最終目標は、レジストリーを中心に得られたゴールデン尿サンプルを利用して、これらの最終候補の新規臨床検査診断法としての有用性の評価である。

#### A. 研究目的

分科会全体目標：

本研究は、「尿中アルブミン」をしのぐ尿中バイオマーカー群の検索とパネル化モデルの提言を最終目標とする。「既報の尿バイオマーカー候補群の選定と複数のマーカーを微量な尿サンプルで同時に測定可能なシステム開発」を全体研究の目標とし、個別研究で糖尿病性腎症の候補マーカーの網羅的検索をさらに進める。

個別研究目的：

1) トランスクリプトーム解析（金沢大学：  
篁 俊成 准教授）

血液を用いた糖尿病病態診断の試み；近年、2 型糖尿病・肥満症は、生体ストレス・炎症や過栄養、多臓器由来液性因子など多因子が体内において複雑なネットワークを形成して発症することが認識されてきた。なかでも肝臓は、糖・蛋白・脂質代謝の司令塔として、これらの多因子を感じとり、遺伝子発現をダイナミックに変化させることで生体の恒常性を維持している。肥満症、糖尿病、およびそれらの合併症である動脈

硬化、癌などの、過栄養が関与する症候群に肝臓の機能破綻とそれに伴うインスリン抵抗性が大きく関与している可能性がある。本研究では、PBMCのおよび肝臓に発現する遺伝子発現プロファイルから糖尿病に関連する遺伝子の検討を行う。

2) 尿中エクソゾームを用いた podocyte 関連タンパク解析 (徳島大学: 安部 秀斉 准教授); 糸球体上皮細胞 (ポドサイト) は高度に機能が分化しており、増殖能を有さないため、種々の障害を受けると糸球体機能に影響を与え、不可逆的な腎機能低下に至る。この、ポドサイト内における障害を非侵襲的かつ継続的に評価するマーカーを同定し、ポドサイト障害の分子病態の解析とともに、侵襲性の高い腎生検によらない、診断かつ予後予測に有用なバイオマーカー測定法を樹立する。

3) メタボローム解析 (藤田保健衛生大学: 湯澤由紀夫 教授)

オミクス解析法のひとつであるメタボローム解析は、生体試料中の全代謝物 (メタボローム) の変化をバイアスをかけずに一斉測定する網羅的解析手法である。キャピラリー電気泳動装置+質量分析機 (CE+MS) による細胞内の全イオン性代謝物 (~1k Da) を網羅的かつ高速に直接定量する手法を用い、糖尿病性腎症の病態を反映するバイオマーカーの網羅的解析を行う。

## B. 研究方法

全体研究:

まず、既報の糖尿病性腎症の尿バイオマーカーとして、CCN2, Collagen IV, Angiotensinogen (AGT), MCP-1, L-FABP を最終候補として選定し、それぞれの特異抗体を購入し、これら5種類のバイオマーカーの測定を開始した。測定には、名古屋大学糖尿病尿サンプル 252 症例及び和田班 JDNCs レジストリーの尿サンプル 16 症例 (境界型・1期~4期) を用いた。微小化学分析システム ( $\mu$ TAS) を応用し

た次世代型の臨床用バイオマーカー測定装置の開発については、多数ある  $\mu$ TAS の中から本研究目的に最適な分析プラットフォームの選定と、選定した  $\mu$ TAS を用いた患者尿サンプルの測定についてモデルバイオマーカーを用いたフィジビリティスタディに着手した。すなわち、本研究で求められる  $\mu$ TAS のスペックとして、複数のバイオマーカーを測定可能であること、微量な尿サンプルで測定可能であること、尿中の微量なバイオマーカーを検出可能な感度を有すること、臨床への応用展開を踏まえて簡便かつ安価な装置であること、などが挙げられる。このような観点から複数の  $\mu$ TAS を比較検討した結果、名古屋大学工学部の渡慶次学准教授が開発した流路型免疫分析チップが最適であると判断した。この流路型免疫分析チップの特徴には、微量サンプル (1 バイオマーカーあたり  $0.7 \mu\text{l}$ ) で、高速分析 (1 アッセイあたり 10 分間以下) が可能なこと、 $\mu$ TAS に尿サンプルや分析試薬を送り込む為の機器装置が不要で、使い捨てのスライドグラス型  $\mu$ TAS とその検出装置のみで、従来の 96 穴プレートによる ELISA 分析と同等かそれ以上の検出感度でマルチバイオマーカーのアッセイが可能であることが挙げられる。しかも、該流路型分析チップのコストは一枚当たり千円程度で、使用する抗体や試薬も極微量で済むため、バイオマーカーの分析に係る総コストを低く抑えることが可能になる。

現在1種類のマーカーを用いた流路型免疫分析チップが終了し、5種類のマーカーを同時測定するシステムに移行中である。さらに、従来の ELISA 分析とデータの検証を行い、5種類のマーカーを用いたパネルモデルを作成中である。

個別研究:

トランスクリプトーム解析

血液を用いた糖尿病病態診断の試み; PBMC の遺伝子発現プロファイルをから、糖尿病と心筋梗塞、ストレス、加齢、概日

リズムの乱れ等の病態診断への応用を目指した解析を行った。また、2型糖尿病患者5名と健常者5名の肝臓における発現遺伝子を SAGE 法を用いて包括的に解析し、糖尿病患者で 1.5 倍以上発現亢進する分泌タンパクコード遺伝子 63 種、発現低下する遺伝子 114 種を同定した。DNA chip 法を用いてこれらの遺伝子群の肝発現レベルと患者の臨床背景を照合した結果、肝遺伝子発現量が HbA1c と相関する遺伝子 14 種、BMI と相関する遺伝子 22 種、HOMA-IR と相関する遺伝子 14 種、グルコースクランプ法で評価したインスリン感受性指数 MCR と相関する遺伝子 15 種を同定した。

#### エクソゾーム解析

進行性の腎疾患においては、尿中にポドサイトが脱落することが知られており、この脱落ポドサイトのカウントによる評価はなされているが、元の腎疾患の診断に用いることはできない。本研究では、病態の明確な動物モデルおよび実際の腎生検で確定診断のついたヒトのさまざまな腎疾患において尿中エクソゾームタンパクを抽出し、その解析によって、ポドサイト障害の詳細を分子レベルで明らかにし、腎疾患の非侵襲的診断法を開発する。

#### メタボローム解析

名古屋大学で収集した糖尿病性腎症各ステージの患者血液サンプルを用いて、メタボローム解析を行った。さらに、次のステップとして、同時に採取した患者尿サンプルを用いて尿中代謝産物の一斉解析に着手し、その第一段階として患者尿サンプルのメタボローム解析法の分析プロトコールの確立を開始した。

#### (倫理面への配慮)

本研究にあたっては、ヘルシンキ宣言および文部科学省・厚生労働省・経済産業省の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、厚生労働省の「臨床研究に関する倫理指針」および文部科学省の「疫学

研究に関する倫理指針」を遵守している。遺伝子発現検索に用いる末梢血液サンプルは、医学研究目的に用いられることについて同意を得た対象者より採取し、連結可能匿名化後に保存する。また、観察研究および臨床研究においては各研究の分担研究者は、臨床研究のプロトコールを作成し、各施設の臨床研究倫理委員会の承認を受けた。

個人遺伝子情報に関する保護と管理についても上記の倫理指針を遵守する。試料・データはすべて連結可能匿名化とし、個人識別に関するデータは個人識別情報管理分担者が管理する。データは専用コンピュータにて一括管理し、データアクセスは研究従事者がパスワードを用いて行う。また、各症例の遺伝子発現情報の管理、情報解析も専用コンピュータに一括して保存し、部外者のアクセスを禁じる。本研究で得られた成果を公表する際は、参加者個人を特定できない形にする。

### C. 研究結果

全体研究：

- 1) ヘルシンキ宣言および各省庁よりの倫理指針に基づいて末梢血液および尿サンプル採集のための臨床研究プロトコールを作成し、臨床研究倫理委員会の承認を受けた。
- 2) 尿中では CCN2, Collagen IV, AGT, MCP-1, L-FABP を、応用可能で簡便・高精度・高再現性なバイオマーカー候補として選定した。測定したバイオマーカーと各種臨床パラメーターとの相関は、  
L-FABP：血清 Cr (R2:0.7694), 尿中アルブミン (R2:0.6640),  $\Delta$ Cr (R2:0.8139)  
MCP-1：尿中アルブミン (R2:0.7259) AGT, ColIV： $\Delta$ Cr (R2:AGT 0.6254, ColIV 0.5037)  
腎機能低下 ( $\Delta$ Cr) に関する各マーカーの ROC 解析: ( $\Delta$ Cr/M>0.0003)  
背景因子：男性 (AUC:0.710), CKD stage (AUC:0.670), 血清 Cr (AUC:0.786) アルブミン尿 (AUC:0.689)