

濾紙血を用いた新生児のクレアチニンスクリーニング検査研究

研究分担者 上村 治 あいち小児保健医療総合センター副センター長  
研究協力者 中野 優 あいち小児保健医療総合センター腎臓科研修医  
伊藤哲哉 名古屋市立大学医学部新生児・小児科学分野准教授

### 研究要旨

3歳児検尿も含めた乳幼児腎臓病検診の質の向上が求められている。この時期の腎臓病検診の対象疾患は先天性腎尿路疾患(congenital abnormality of kidney and urinary tract:以下 CAKUT)であり、慢性糸球体腎炎が主な対象疾患である腎臓病学校検診とは大きく異なる。3歳児検尿の検査項目を再考することで、CAKUT 診断の感度と特異度をあげることが非常に重要であるが、CAKUT の中でも早期に介入することで患者の合併症予後が変わる可能性の高いCKD ステージ3の子どもたちを早期発見するための手段として、新生児マススクリーニングとしてクレアチニンを測定することに思い至った。新生児マススクリーニングが、ガスリー法からタンデムマス法に移行しつつあり、この方法によって血清クレアチニン値を測定することによって、この目的が達せられると考えて検討を開始した。8検体について検討したところ酵素法で測定した血清クレアチニン値とはまだ誤差が大きいものの、非常に実現性のあるものであることが判明し、小児 CKD の早期発見に将来的に役立つ可能性があるものと考えられた。

### A. 研究目的

小児 CKD は、成人 CKD に比較して若年期に末期腎不全に至り、一生にわたる透析療法あるいは複数回の腎移植が必要となる場合があり、小児独自の対策が必要である。2006年に日本CKD対策協議会が立ちあげられたのを機に、日本小児腎臓病学会でも小児CKD対策委員会が発足された。

先天性腎尿路疾患(congenital abnormality of kidney and urinary tract:以下 CAKUT)は全妊娠の0.5%に認められ、小児慢性腎臓病の原因として最も多い。例えば、CKD ステージ3の全国疫学調査では全体の60%以上を占めた。しかしCAKUTでは尿蛋白、尿潜血を呈するケースは少なく、CAKUTの発見につながりにくい。CAKUTの中には下部尿路疾患で早期に泌尿器科的対応をすることにより、末期腎不全への進行を防ぐことができる疾患もあるが、CAKUTの中には治療介入でき

ない疾患も多い。しかし早期介入することで合併症予防や腎機能温存が可能な場合や、先行的腎移植の選択ができるようになるケースも存在し、CAKUTを早期に発見できることは有用である。CAKUTを効率良く発見するには画像診断法(特に超音波検査)の導入が最も望ましいが、これは施行者の技術の問題や対象が全出生児に及ぶことを考えるマンパワー的にも現実的ではない。また尿中β<sub>2</sub>ミクログロブリンの検査は他の尿検査と比較すると、感度・特異度ともに満足できるものとなりうるが、現在の3歳児検尿のシステムを変更しなければ難しく、またコスト的にも問題がある。

そこで、我々は新生児の血清クレアチニンを測定し、その基準値をもとにCAKUTの発見ができないか検討することとした。新生児期にはガスリー検査がすでに施行されているので、この濾紙法

を利用した検査を行うこととした。現在新生児のマススクリーニングは従来ガスリー法が行われていたが、タンデムマス法の方がより多くの疾患をスクリーニングできるため、現在パイロットスタディが行われている。このタンデムマス法を用いればクレアチニンの測定も可能である。

新生児は出生後の血圧上昇と、プロスタグランジンなどの関与による腎血管抵抗の低下により、RPF がダイナミックに変動すること、また腎機能はどんどんと成熟していく時期でもあり、血清クレアチニンは大きく変化する。この点から新生児の血清クレアチニンの正常値に関しては、まだ基準値となるものがほとんどない。今回このクレアチニンの基準値を作成し、これから有意に逸脱するものに対象を絞って、精査を行うことで CKD の早期発見につなげたいと考える。これらにより、新生児期の採血で各個体の腎機能異常の児を発見することができれば、小児慢性腎臓病 (CKD) を早期に発見でき、早期治療により日本の小児 CKD 対策に役立てることができると考えられる。

## B. 研究方法

### 対象

#### 1. 選択基準

正常ボランティアを対象とすることとした。日齢 5 前後で行われている、ガスリー採血の際に、濾紙に 1 スポット分だけ余分に血液を採取し、測定を行う。

- ① 出生時の経過が明確なもの。
- ② 本試験の参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、説明同意文書による同意が児の両親又は法的保護者から得られたもの。

#### 2. 除外基準

下記に該当する患者は対象から除外。

- ① 胎児期に腎泌尿器疾患を疑う所見のあるもの。
- ② 感染症のあるもの。

- ③ 胎児仮死などのあるもの。
- ④ 脱水を伴っていると考えられるもの。
- ⑤ 筋肉疾患のあるもの。
- ⑥ 染色体異常を含めた奇形症候群の可能性のあるもの。
- ⑦ NICU での管理を要するもの。
- ⑧ その他、研究責任(分担)医師が被験者として不適当と判断した患者。

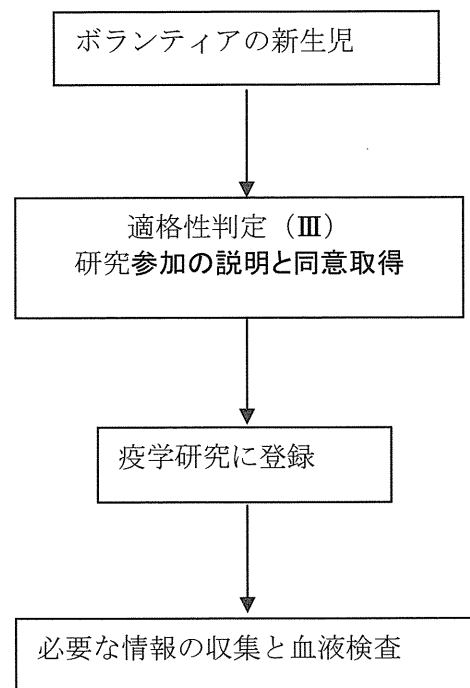
### 方法

#### 1. 試験の種類・デザイン

人体から採取された試料 (血液) を用いる観察研究である。

#### 2. 試験のアウトライン (試験のフローチャート参照)

- ① 採血時に身長、体重を同時に測定する。生年月日、採血年月日、出生体重、在胎週数も必須である。これらを登録票に記載する。
- ② 併用禁止薬以外の併用薬の使用は良い。登録票に記載 (使用理由、薬品名および用量) する。



#### 3. 使用薬に関する規定

- ・使用禁止薬：ビタミン K 以外のすべて

の薬剤。

・併用可能薬：ただし、研究責任(分担)医師が被験者として適当と判断した薬剤は可。併用薬使用の場合は、調査票に記載(使用理由、薬品名および用量)する。

#### 4. 試験法

今回の研究の目的はガスリー検査に合わせてクレアチニンの測定を行うことを目的としている。そのため、濾紙法で採取した検体を用いる。抽出方法も従来の濾紙からの抽出法と同様に行う。これをタンデム型質量分析計(タンデムマス)で測定する。タンデムマスは質量分析計を直列に2つ並べた構造の高感度分析機器で血清クレアチニンの定量を行うことができる。抽出した検体の前処置、タンデムマスで検出する条件設定について検討を行う。条件が決まれば、まず正常児での測定を行い、分布曲線を作成する。これをもとにカットオフ値を設定する。

### C. 研究結果

今回の検討は新生児の濾紙血法によるマススクリーニングに合わせて、クレアチニンを測定することにある。従って検体の抽出方法については、マススクリーニングの際の抽出方法と同一で行うこととした。

具体的には濾紙を3mm径にパンチし、固定液を10 $\mu$ Lしみ込ませて30分乾燥(37度)→抽出液100 $\mu$ Lを加え室温で30分震盪→MS/MS flow injection、という手順で行った。

固定液は上述の通りマススクリーニングと同様のものを作成。100%メタノール7mL+100%アセトン7mL+水2mLで作成した。抽出液は今回標準品としてD-3同位体のついたクレアチニンを用いることとした。これによって、クレアチニンと少しずれたピークを作り、このピークのカウンタ数から抽出率を算定し、これをもとに血清クレ

アチニンを計算することとした。移動相についてはアセトニトリル250mLとメタノール250mL、水125mLで作成することとした。揮発させやすくするために蟻酸を0.05%加えた。これもマススクリーニングと同様の手順である。

#### 実際の測定

検体はボランティアから集めた8検体とコントロールとしてクレアチニンの同位体で作成した2標本(0.5mg/dL、1.0mg/dL)を用いた。

測定には島津製作所LCMS-8030を使用した。今回の測定はコストを考慮して、まずカラムを使用せずに測定することとした。結果は以下の通りであった。

No.	酵素法	濾紙法
1	0.82	2.04
2	0.86	1.37
3	0.91	1.43
4	0.86	1.15
5	0.71	0.89
6	0.79	1.50
7	0.68	0.71
8	0.63	1.26

### D. 考察および E. 結論

今回のボランティア検体の検討では、酵素法と濾紙法にかなりの誤差があった。誤差の原因は血液中の他の物質の影響を受けたことにある。他のマススクリーニングの項目と異なり、小さな値の変化をとらえることが目的であることを考慮すると、感度を上げる必要がある。しかし誤差はあるものの測定そのものができているということが重要であり、これはカラムを用いてSIMをすることなどの工夫で解決できると思われ、測定の実現性は高いと考えられた。またマススクリーニングという性質からコストについても考慮する必要があり、今後安価で信頼性の高い濾紙からの測定を模索していく。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Hattori M, Matsunaga A, Akioka Y, Fujinaga S, Nagai T, Uemura O, Nakakura H, Ashida A, Kamei K, Ito S, Yamada T, Goto Y, Ohta T, Hisano M, Komatsu Y, Itami N. Darbepoetin alfa for the treatment of anemia in children undergoing peritoneal dialysis: a multicenter prospective study in Japan. *Clin Exp Nephrol*. 2012 Oct 23. [Epub ahead of print]
  - 2) Ikezumi Y, Honda M, Matsuyama T, Ishikura K, Hataya H, Yata N, Nagai T, Fujita N, Ito S, Iijima K, Kaneko T, Uemura O. Establishment of a normal reference value for serum  $\beta_2$  microglobulin in Japanese children: reevaluation of its clinical usefulness. *Clin Exp Nephrol*. 2013; 17: 99-105.
  - 3) Ishida K, Fukao M, Watanabe H, Taguchi M, Miyawaki T, Matsukura H, Uemura O, Zhang Z, Unadkat JD, Hashimoto Y. Effect of salt intake on bioavailability of mizoribine in healthy Japanese males. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2012 Jul 17. [Epub ahead of print]
  - 4) Yokoyama H, Sugiyama H, Sato H, Taguchi T, Nagata M, Matsuo S, Makino H, Watanabe T, Saito T, Kiyohara Y, Nishi S, Iida H, Morozumi K, Fukatsu A, Sasaki T, Tsuruya K, Kohda Y, Higuchi M, Kiyomoto H, Goto S, Hattori M, Hataya H, Kagami S, Yoshikawa N, Fukasawa Y, Ueda Y, Kitamura H, Shimizu A, Oka K, Nakagawa N, Ito T, Uchida S, Furuichi K, Nakaya I, Umemura S, Hiromura K, Yoshimura M, Hirawa N, Shigematsu T, Fukagawa M, Hiramatsu M, Terada Y, Uemura O, Kawata T, Matsunaga A, Kuroki A, Mori Y, Mitsui K, Yoshida H. Renal disease in the elderly and the very elderly Japanese: analysis of the Japan Renal Biopsy Registry (J-RBR). *Clin Exp Nephrol*. 2012; 16: 903-20.
  - 5) Uemura O, Honda M, Matsuyama T, Ishikura K, Hataya H, Nagai T, Ikezumi Y, Fujita N, Ito S, Iijima K. Is the new Schwartz equation derived from serum creatinine and body length suitable for evaluation of renal function in Japanese children? *Eur J Pediatr*. 2012; 171: 1401-4.
  - 6) Udagawa T, Kamei K, Ogura M, Tsutsumi A, Noda S, Kasahara M, Fukuda A, Sakamoto S, Shigeta S, Tanaka H, Kuroda T, Matsuoka K, Nakazawa A, Nagai T, Uemura O, Ito S. Sequential liver-kidney transplantation in a boy with congenital hepatic fibrosis and nephronophthisis from a living donor. *Pediatr Transplant*. 2012; 16: E275-80.
  - 7) Ushijima K, Uemura O, Yamada T. Age effect on whole blood cyclosporine concentrations following oral administration in children with nephrotic syndrome. *Eur J Pediatr*. 2012; 171: 663-8.
  - 8) 山川聡、二宮誠、石川智朗、後藤美和、上村治、本田雅敬. 慢性腎臓病 (CKD) への運動制限のエビデンス. *日児腎誌*. 2012; 25: 19-26.
  - 9) 上村治. 小児における慢性腎臓病対策. *日児誌*. 2011; 115: 1713-26.
- 学会発表
- 10) 上村治. 教育セミナー「血尿・蛋白尿と腎機能評価」 第21回日本小児泌尿器科学会. 岡山 2012.7.4
  - 11) 上村治. モーニングセミナー「小児慢性腎臓病 (CKD) と心血管疾患 (CVD) -カルニチン欠乏の関与-」 第48回日本小児循環器学会. 京都 2012.7.7
  - 12) 上村治. シンポジウム 血清・尿蛋白の視点

から見た腎機能検査のハーモナイゼーション より信頼性の高い測定結果を求めて 「小児における腎機能評価の新たな展開」 第 44 回日本臨床検査自動化学会. 横浜 2012.10.13

13) 上村治. モーニングレクチャー「日本人小児 CKD 患者におけるダルベポエチンアルファ治療の実際」第 47 回日本小児腎臓病学会 東京 2012.6.30

14) 上村 治、服部元史、伊藤秀一、幡谷浩史、堤康、井藤奈央子、秋澤忠男「日本人小児 CKD 患者における Darbepoetin alfa 投与時の薬物動態の検討」第 57 回日本透析医学会. 札幌 2012.06.22

#### H. 知的財産権の出現・登録状況

なし

# 疫学研究

## 濾紙血を用いた新生児の クレアチニンスクリーニング検査研究

### 試験実施計画書

研究代表者

中野 優

(あいち小児保健医療総合センター腎臓科)

研究分担者

上村 治

(あいち小児保健医療総合センター腎臓科)

伊藤哲哉

(名古屋市立大学小児科)

## 目次

I. 研究の経緯・背景	1
II. 目的	1
III. 対象	1
1. 選択基準	1
2. 除外基準	1
IV. 方法	2
1. 試験の種類・デザイン	2
2. 試験のアウトライン	2
3. 併用薬に関する規定	3
V. 登録	3
VI. 観察・評価項目	3
1. 観察・検査項目	3
1) 患者背景	3
2) 血液検査	3
2. 評価項目	3
1) 主要評価項目	3
2) 副次的評価項目	3
VII. 統計解析	3
VIII. 有害事象の報告	4
1. 有害事象の報告	4
2. 計画書の変更	4
3. 研究の中止	4
IX. 目標症例数および予定期間	4
X. 倫理	4
1. 倫理委員会	4

2. 説明と同意 .....	4
3. 被験者の個人情報の保護 .....	5
XI. 被験者の費用負担 .....	5
XII. 公表に関する取り決め .....	5
XIII. 事務局（研究総括医師） .....	5
XIV. 研究実施施設および研究担当医師 .....	6



## I. 研究の経緯・背景

先天性腎尿路疾患(congenital abnormality of kidney and urinary tract:以下CAKUT)は全妊娠の0.5%に認められ、小児慢性腎不全の原因として最も多い。しかしCAKUTでは尿蛋白、尿潜血を呈するケースは少なく、CAKUTの発見につながりにくい。CAKUTの中には治療介入できない疾患も多いが、早期介入することで合併症予防や腎機能温存が可能な場合や、先行的腎移植の選択ができるようになるケースも存在する。CAKUTを早期に発見できることは有用であると考える。

CAKUTを効率良く発見するには画像診断法(特に超音波検査)の導入が最も望ましいが、これは施行者の技術の問題や対象が全出生児に及ぶことを考えると現実的ではない。

そこで、我々は新生児の血清クレアチニンを測定し、その基準値をもとにCAKUTの発見ができないか検討することとした。新生児期にはガスリー検査がすでに施行されているので、この濾紙法を利用した検査を行うこととした。現在新生児のマススクリーニングは従来ガスリー法が行われていたが、タンデムマス法の方がより多くの疾患をスクリーニングできるため、現在パイロットスタディが行われている。このタンデムマス法を用いればクレアチニンの測定も可能である。

新生児は出生後の血圧上昇と、プロスタグランジンなどの関与による腎血管抵抗の低下により、RPFがダイナミックに変動し、血清クレアチニンは大きく変化する。この点から新生児の血清クレアチニンの正常値に関しては、まだ基準値となるものがない。今回このクレアチニンの基準値を作成し、これから有意に逸脱するものに対象を絞って、精査を行うことでCKDの早期発見につなげたいと考える。これらにより、新生児期の採血で各個体の腎機能異常の児を発見することができれば、小児慢性腎臓病(CKD)を早期に発見でき、早期治療により日本の小児CKD対策に役立てることができると考えられる。

## II. 目的

新生児の血清クレアチニン値(濾紙法)の正常値を求め、基準値から逸脱する症例を精査することでCAKUTの発見につなげることを目的とする。なお対象(被験者)は、下記の除外基準を有しない正常新生児とした。

## III. 対象

### 1. 選択基準

正常ボランティアを対象とすることとした。日齢5前後で行われている、ガスリー採血の際に、濾紙に1スポット分だけ余分に血液を採取し、測定を行うこととした。腎機能に問題がある可能性の高いものは除外基準に入れた。この選択基準、除外基準に照らし合わせて研究分担医師が判断する。

- ① 出生時の経過が明確なもの。
- ② 本試験の参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、説明同意文書による同意が児の両親又は法的保護者から得られたもの。

## 2. 除外基準

下記に該当する患者は対象から除外する。

- ① 胎児期に腎泌尿器疾患を疑う所見のあるもの。
- ② 感染症のあるもの。
- ③ 胎児仮死などのあるもの。
- ④ 脱水を伴っていると考えられるもの。
- ⑤ 筋肉疾患のあるもの。
- ⑥ 染色体異常を含めた奇形症候群の可能性のあるもの。
- ⑦ NICUでの管理を要するもの。
- ⑧ その他、研究責任(分担)医師が被験者として不適当と判断した患者。

## IV. 方法

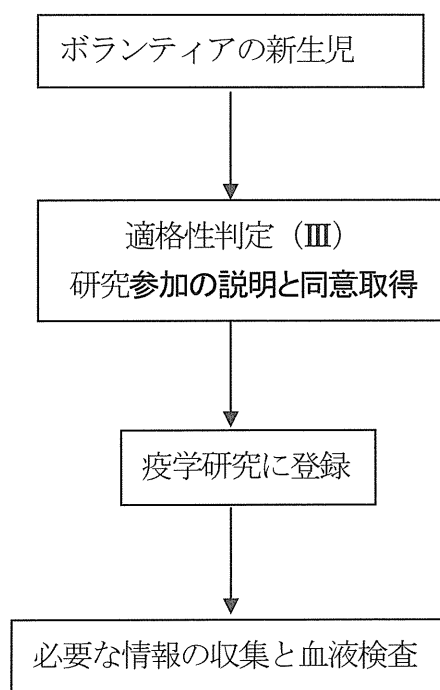
### 1. 試験の種類・デザイン

- ・ 人体から採取された試料（血液）を用いる観察研究である。

### 2. 試験のアウトライン（試験のフローチャート参照）

- ・ 採血時に身長、体重を同時に測定する。生年月日、採血年月日、出生体重、在胎週数も必須である。これらを登録票に記載する。
- ・ 併用禁止薬以外の併用薬の使用は良い。登録票に記載（使用理由、薬品名および用量）する。

## ボランティアの新生児



### 3. 使用薬に関する規定

- ・使用禁止薬：ビタミンK以外のすべての薬剤。
- ・併用可能薬：ただし、研究責任(分担)医師が被験者として適当と判断した薬剤は可。併用薬使用の場合は、調査票に記載（使用理由、薬品名および用量）する。

### 4. 試験法

- ・ 今回の研究の目的はガスリー検査に合わせてクレアチニンの測定を行うことを目的としている。そのため、濾紙法で採取した検体を用いる。抽出方法も従来の濾紙からの抽出法と同様に行う。これをタンデム型質量分析計（タンデムマス）で測定する。タンデムマスは質量分析計を直列に2つ並べた構造の高感度分析機器で血清クレアチニンの定量を行うことができる。抽出した検体の前処置、タンデムマスで検出する条件設定について検討を行う。条件が決まれば、まず正常児での測定を行い、分布曲線を作成する。これをもとにカットオフ値を設定する。

## V. 登録

### 登録手順①

<愛知県の正常分娩を扱う医療施設で出生した正常新生児>

- 1) 研究責任(分担)医師は、ガスリー検査が必要と判定した患者に対し、選択基準をすべて満たし、除外基準のいずれにも該当しないことを確認した後、本試験について説明し、説明同意文書による被験者の法的保護者から同意を取得する。
- 2) 本研究に協力し検体の提出を行う施設は、その施設の倫理委員会の承認を得るものとする。

### 登録手順②

研究責任(分担)医師は、登録票に必要事項をすべて記入のうえ、事務局に郵送する。

研究責任(分担)医師は、自施設で保管する被験者識別番号リストに、同意取得日および被験者と被験者識別番号を対応させるために必要な事項を記載する。

患者のプライバシーを保護するために、登録には各施設で患者名を匿名化する。

事務局に登録票が送られ、確認された時点が登録である。

## VI. 観察・評価項目

### 1. 観察・検査項目

#### 1) 患者背景

採血時の患者背景について以下の項目を登録票に記入する。

被験者識別番号、性別、生年月日、出生体重、在胎週数、同意取得日、採血年月日、身長、体重、Apgar score、併用薬（薬品名、用量、使用期間、使用理由）。

#### 2) 血液検査

クレアチニンの測定はガスクロマトグラフィー質量分析で行う。

ガスリー検査の際に濾紙血を1スポット分採取し、ここから検体を抽出してクレアチニンの測定を行う。

## 2. 評価項目

### 1) 主要評価項目

濾紙採血検体のタンデムマス法による新生児期の血清クレアチニン基準値を決定する。

### 2) 副次的評価項目

採血の日齢、**Apger score** などによりクレアチニン値に違いが出ないか評価する。

スクリーニング法としてのカットオフ値を決定する。

## VII. 統計解析

本研究の評価項目は新生児期の血清クレアチニン基準値を作成することである。正常値は中央値とパーセンタイル値で表現し、どの値を異常値と考えるべきかを検討する。99パーセンタイルであれば凡そ全国で1万人程度が検出されることになる。統計学的検討は基本的にはノンパラメトリック法で行う予定だが、正規分布する場合にはパラメトリック法も使用する。

## VIII. 有害事象の報告、計画書の変更および研究の中止

### 1. 有害事象の報告

採血などの処置に際してみられる、あらゆる好ましくない症状、徴候、検査値の異常を有害事象と定義する。処置との因果関係があるもののみを指すわけではない。有害事象が出現した場合、試験責任医師あるいは試験分担医師は適切な処置を行う。試験責任医師あるいは試験分担医師が有害事象により試験の実施困難と判断した場合は試験を中止する。

### 2. 計画書の変更

本研究の進行中に計画書の変更を余儀なくされた場合、研究総括医師は各施設の研究担当医師と協議をし、研究担当医師に対し必要な指示を与える。また、研究担当医師は計画書の変更について、各施設の倫理委員会の承認を得るものとする。

### 3. 研究の中止

本研究の途中で研究全体を中止せざるを得ない理由が生じた場合、研究総括医師は研究担当医師に速やかに中止理由を連絡する。また、研究担当医師は、速やかに中止理由とともに倫理委員会および医療機関の長に連絡する。

## IX. 目標症例数および予定期間

目標症例数：男女とも最低 100 例

登録期間：2013年1月～2014年12月

## X. 倫理

本試験は、ヘルシンキ宣言は遵守し、「臨床研究に関する倫理指針」（改正指針：平成17年4月施行）を準用して実施する。

### 1. 倫理審査委員会

本試験実施に先立ち、本試験計画書を試験実施医療機関の該当する倫理審査委員会等に提出し、本試験の倫理性・科学的妥当性、試験施設責任医師・試験担当医師の適格性の審査を受ける。

### 2. 説明と同意

本試験への参加に対しては両親または法的保護者が代諾者となる。試験担当医師は、被験者が本試験へ参加する前に各実施医療機関の倫理審査委員会等で承認の得られた説明文書を用いて代諾者に本試験の説明を行い、最低1名の代諾者から自由意志による文書同意を取得する。同意書には代諾者と被験者との関係を記録し、説明を行った担当医師、患者の代諾者が記名、捺印または署名し、各自日付を記入する。担当医師は、患者が本試験に参加する前に、記名捺印または署名と日付が記入された同意書の写しおよび説明文書を患者および代諾者に渡し、同意書をカルテに保管する。代諾者は同意後も随時同意の撤回ができ、撤回による不利益を受けない。

### 3. 被験者の個人情報の保護

調査票の作成、被験者のデータの取り扱いについては、被験者のプライバシーを保護する。患者のプライバシーを保護するために、患者の特定は被験者識別番号により行う。研究に参加する者は、原資料の閲覧によって知り得た被験者のプライバシーに関する情報を第三者に漏洩しない。試験と解析が終了後も、試験施設責任医師は原資料を安全に保管する。

## XI. 被験者の費用負担

本研究に参加した被験者に対して行われる血液検査にかかる費用は全て事務局で負担する。患者負担はない。患者に対する謝礼はない。

採血による有害事象や合併症が発生した場合に対する治療には被験者が加入する健康保険が適用され、その自己負担分は被験者の負担とする。

## XII. 公表に関する取り決め

本試験の結果を専門の学会、雑誌等外部に発表する場合には、事前に研究代表者の承諾を得るものとする。また、公表の際には被験者の個人情報の保護を厳守する。

本研究の企画・運営は民主的に行い、研究貢献度に応じた発表 **authorship** を認める。個人情報以外は公開を原則とする。

XIII. 事務局（研究総括医師）

中野 優

あいち小児保健医療総合センター腎臓科  
474-0031 愛知県大府市森岡町尾坂田 1 番 2

Masaru Nakano

Department of Pediatric Nephrology

Aichi Children's Health and Medical Center

Aichi Prefectural Government

1-2 Osakada, Morioka-cho, Obu, Aichi 474-0031, JAPAN

Phne: 0562-43-0500

Fax: 0562-43-0513

E-mail: [m.nakano@icloud.com](mailto:m.nakano@icloud.com)

XIV. 研究実施施設および研究分担医師

小児 CKD の早期発見

尿  $\beta$  2MG および尿蛋白定量と尿蛋白定性との関係 — 全国調査における検討 —

研究分担者 石倉健司 東京都立小児総合医療センター 腎臓内科

研究協力者 金子徹治 東京都立小児総合医療センター 臨床試験科

研究要旨

本研究は、厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）小児保存期慢性腎臓病(CKD)患者の長期予後の解明と腎不全進行抑制の治療法の確立班（H23-難治-一般-113）で収集したデータに基づき、小児 CKD 患者（ステージ 3-5）における、尿  $\beta$  2 マイクログロブリン( $\beta$  2MG)および尿蛋白定量と尿蛋白定性の陽性率（感度）を比較し、これらの尿検査項目で小児 CKD を正しく診断できるか検討することを目的とする。

平成 22 年度の厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）[本邦小児の新たな診断基準による小児慢性腎臓病（CKD）の実態把握のための調査研究]の全国疫学調査で得られた小児 CKD ステージ 3-5（透析・腎移植を除く）の患者 447 人について、平成 23 年度調査で得られた検尿データに関する調査結果（尿蛋白定性、尿蛋白定量、尿 Cr、尿  $\beta$  2MG）を検討した。

蛋白定性検査では、カットオフレベル±（±から異常）とした場合の陽性率は、CAKUT 以外の疾患でステージ 3 51.1%、ステージ 4 71.0%、ステージ 5 87.5%、CAKUT でステージ 3 51.3%、ステージ 4 71.7%、ステージ 5 85.7%であった。一方、尿  $\beta$  2MG/クレアチニン（Cr）比（カットオフレベル 0.3  $\mu$  g/mg）の陽性率は、CAKUT 以外の疾患でステージ 3 82.5%、ステージ 4 94.7%、ステージ 5 60.0%、CAKUT でステージ 3 96.2%、ステージ 4 97.6%、ステージ 5 100.0%であった。また尿蛋白定量/Cr 比（カットオフレベル 0.15 mg/mg）の陽性率は CAKUT 以外の疾患でステージ 3 70.8%、ステージ 4 75.0%、ステージ 5 100.0%、CAKUT でステージ 3 75.6%、ステージ 4 96.1%、ステージ 5 80.0%であった。

以上から、CAKUT を中心とした小児 CKD 患者の早期発見のためには、尿蛋白定性を中心とした現行の 3 歳児検尿は感度が低く、尿  $\beta$  2MG/Cr 比又は尿蛋白定量/Cr 比の方が有用な可能性が示された。今後 3 歳児検尿では、尿蛋白検査の限界を踏まえつつ、今回高い感受性が示された尿  $\beta$  2MG/Cr 比や尿蛋白定量/Cr 比を組み合わせた方法を検討する必要があると考えられる。

A. 研究目的

小児 CKD は先天性腎尿路異常（CAKUT）を中心とした疾患で \*あり、乳幼児期から徐々に腎機能か \*悪化し、成長発達に大きな影響を及ぼ \*すなど \*成人の CKD とは大きく異なる。また末期腎

不全に進行した場合、一生にわたる透析や複数回の腎移植か \*必要となり、早期発見と進行抑制は特に重要で \*ある。

CAKUT は小児 CKD の原因として最も高頻度である。しかし、そのなかで代表的な疾患である低

形成異形成腎をはじめ多くの疾患では希釈尿を呈するために、現行の尿試験紙を用いた検尿システムで早期に発見することは難しい。従来から尿β2MGや尿蛋白定量と尿クレアチニン(Cr)との比が有用と考えられているが、エビデンスとして確立されたものは無い。

本研究は、厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)小児保存期慢性腎臓病患者の長期予後の解明と腎不全進行抑制の治療法の確立班(H23-難治-一般-113)で収集したデータに基づき、小児CKD患者(ステージ3-5)における、β2MGおよび尿蛋白定量と尿蛋白定性の陽性率(感度)を比較し、これらの尿検査項目で小児CKDを正しく診断できるか検討する。

## B. 研究方法

平成22年度の厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)[本邦小児の新たな診断基準による小児慢性腎臓病(CKD)の実態把握のための調査研究]の全国疫学調査で得られた小児CKDステージ3-5(透析・腎移植を除く)の患者447人(ステージ3 315人, ステージ4 107人, ステージ5 25人)について、平成23年度調査で得られた検尿データに関する調査結果(尿蛋白定性、尿蛋白定量、尿Cr、尿β2MG)を検討した。

## C. 研究結果

### 1. 蛋白定性

①カットオフレベル±(±から異常)とした場合の陽性率

・CAKUT以外の疾患での陽性率  
 ステージ3 51.1%, ステージ4 71.0%, ステージ5 87.5%

・CAKUTでの陽性率  
 ステージ3 51.3%, ステージ4 71.7%, ステージ5 85.7%

②カットオフレベル+(+から異常)とした場合の陽性率

・CAKUT以外の疾患での陽性率  
 ステージ3 34.4%, ステージ4 58.1%, ステージ5 87.5%

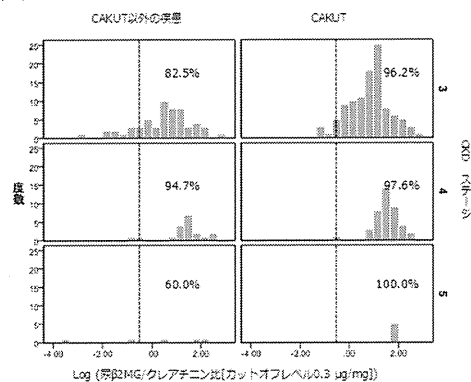
・CAKUTでの陽性率  
 ステージ3 34.7%, ステージ4 58.3%, ステージ5 85.7%

2. 尿β2MG/Cr比(カットオフレベル0.3 μg/mg)の陽性率(図1)

・CAKUT以外の疾患での陽性率  
 ステージ3 82.5%, ステージ4 94.7%, ステージ5 60.0%

・CAKUTでの陽性率  
 ステージ3 96.2%, ステージ4 97.6%, ステージ5 100.0%

図1



### 3. 尿蛋白定量/Cr比

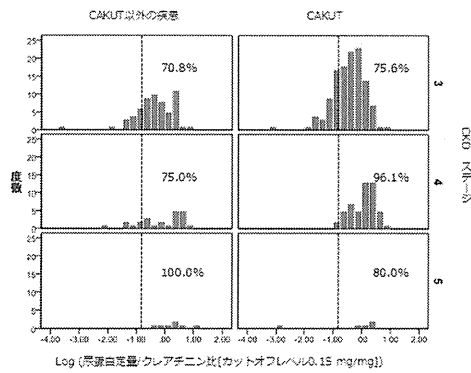
①カットオフレベル0.15 mg/mgの陽性率(図2)

・CAKUT以外の疾患での陽性率  
 ステージ3 70.8%, ステージ4 75.0%, ステージ5 100.0%

・CAKUTでの陽性率  
 ステージ3 75.6%, ステージ4 96.1%, ステージ5 80.0%



図 2



②カットオフレベル 0.20 mg/mg の陽性率

・ CAKUT 以外の疾患での陽性率

ステージ 3 66.2%, ステージ 4 75.0%, ステージ 5 100.0%

・ CAKUT での陽性率

ステージ 3 66.7%, ステージ 4 96.1%, ステージ 5 80.0%

なお P/C が陽性でも、定性土では陰性化する可能性のある尿中クレアチニン 100mg/dl 未満は 83% を占め、CAKUT は希釈尿が多い事が問題であった。

D. 考察

小児 CKD 患者（ステージ 3-5）の患者において、各尿検査項目の陽性率（感度）を検討した。その結果、原疾患が CAKUT であるか否かにかかわらず、尿蛋白定性検査では、特にステージ 3, 4 の場合、感度が不十分であることが示された。Cr で補正した尿蛋白定量検査で、感度は上昇するが、β 2MG の結果と比較すると依然不十分である。

さらに今回検討した平成 22 年度の厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）[本邦小児の新たな診断基準による小児慢性腎臓病（CKD）の実態把握のための調査研究] の小児 CKD 患者 447 人のデータをまとめた研究報告によれば、発見動機をみると、3 歳児検尿での発見は CAKUT 患者 278 人の 9 人（3.2%）、CAKUT 以外の患者でも 169 人の 7 人（4.1%）と非常に少数で

あった（Ishikura K, Uemura O, Ito S, Wada N, Hattori M, Ohashi Y, Hamasaki Y, Tanaka R, Nakanishi K, Kaneko T, Honda M. Pre-dialysis chronic kidney disease in children: results of a nationwide survey in Japan. Nephrol Dial Trans in press). とくに 3 歳以上で発見された CAKUT の患者は 73 人で、9 人のみが 3 歳児検尿で発見され、64 人が 3 歳児検尿で発見されなかった事になる。以上から乳児期も含め見逃されている患者は約 25%に達するが、3 歳児検尿でも多くが見逃されていた。

CAKUT 発見に関する超音波検査の意義については、すでに研究分担者の松山らが報告しており（松山健, 五月女友美子, 中村ちなみ, 上山泰淳, 本田雅敬, 長谷川理, 川原和彦, 川村研, 伊藤拓. 検尿異常児の超音波所見 1306 症例の検討. 小児科臨床 1996; 49: 21-26), 今後 3 歳児検尿では、尿蛋白検査の限界を踏まえつつ、超音波検査や今回高い感受性が示された尿 β 2MG 検査及び尿蛋白定量/Cr 比を組み合わせた方法を検討する必要があると考えられる。

一方、本研究の対象者は全てステージ 3 以上の CKD 患者であり、各検査の特異度は検討できていない。今後健常者を対象にした各検査項目の特異度を検討していく必要がある。

E. 結論

尿蛋白定性を中心とした現行の 3 歳児検尿は、CAKUT を中心とした小児 CKD 患者の早期発見のためには感度が低い。今回高い感受性が示された尿 β 2MG 検査や尿蛋白定量/Cr 比を組み合わせた方法を検討する必要があると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Ishikura K, Uemura O, Ito S, Wada N, Hattori M, Ohashi Y, Hamasaki Y, Tanaka R, Nakanishi K, Kaneko T, Honda M. Pre-dialysis chronic kidney disease in children: results of a nationwide survey in Japan. *Nephrol Dial Trans* in press
2. Ishikura K, Yoshikawa N, Nakazato H, Sasaki S, Iijima K, Nakanishi K, Matsuyama T, Ito S, Yata N, Ando T, Honda M. for the Japanese Study Group of Renal Disease in Children. Two-Year Follow-Up of a Prospective Clinical Trial of Cyclosporine for Frequently Relapsing Nephrotic Syndrome in Children. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7: 1576-1583
3. Ishikura K, Hamasaki Y, Sakai T, Hataya H, Mak RH, Honda M. Posterior reversible encephalopathy syndrome in children with kidney diseases. *Pediatr Nephrol* 2012; 27: 375-384
4. Shishido S, Satou H, Muramatsu M, Hamasaki Y, Ishikura K, Hataya H, Honda M, Asanuma H, Aikawa A. Combination of pulse methylprednisolone infusions with cyclosporine-based immunosuppression is safe and effective to treat recurrent focal segmental glomerulosclerosis after pediatric kidney transplantation. *Clin Transplant* 2012 in press
5. Wakaki H, Ishikura K. Henoch-Schönlein nephritis with nephrotic state in children: predictors of poor outcomes. *Pediatr Nephrol* 2012; 27: 335
6. Ikezumi Y, Honda M, Matsuyama T, Ishikura K, Hataya H, Yata N, Nagai T, Fujita N, Ito S, Iijima K, Kaneko T, Uemura O. Establishment of a normal reference value for serum  $\beta 2$  microglobulin in Japanese children: reevaluation of its clinical usefulness. *Clin Exp Nephrol* 2012; [Epub ahead of print]
7. Uemura O, Honda M, Matsuyama T, Ishikura K, Hataya H, Nagai T, Ikezumi Y, Fujita N, Ito S, Iijima K; Japanese Society for Pediatric Nephrology, the Committee of Measures for Pediatric CKD. Is the new Schwartz equation derived from serum creatinine and body length suitable for evaluation of renal function in Japanese children? *Eur J Pediatr* 2012; 171: 1401-1404
8. Hamasaki Y, Yoshikawa N, Nakazato H, Sasaki S, Iijima K, Nakanishi K, Matsuyama T, Ishikura K, Ito S, Kaneko T, Honda M. Prospective 5-year follow-up of cyclosporine treatment in children with steroid-resistant nephrosis. *Pediatr Nephrol*. 2013 Jan 13. [Epub ahead of print]
9. Yata N, Uemura O, Honda M, Matsuyama T, Ishikura K, Hataya H, Nagai T, Ikezumi Y, Fujita N, Ito S, Iijima K, Saito M, Kaneko T, Kitagawa T. Reference ranges for serum cystatin C measurements in Japanese children by using 4 automated assays. *Clin Exp Nephrol*. 2013 Feb 28. [Epub ahead of print]
10. 石倉健司. ネフローゼ症候群. 今日の小児治療指針 第15版 16 腎・泌尿器疾患 2012; 16: 577-579
11. 新井田麻美, 石倉健司, 腎臓症候群(第2版)上-その他の腎臓疾患を含めて-【先天性・遺伝性腎疾患 形態・位置・数などの異常 腎の形成異常(低形成・異形成腎を中心に). 日本臨床 別冊(腎臓症候群(上)) 2012; 485-491
12. 山田剛史, 濱崎祐子, 石倉健司. 【クローズアップ腎・泌尿器】 概念・研究の進歩 小児のCKDとeGFR 評価小児内科. 2012; 44. 151-155
13. 小牧文代, 石倉健司. 【腎疾患治療マニュアル 2012-13】 糸球体疾患 微小変化型ネフローゼ症候群(小児). 腎と透析 2012; 72: 266-270

14. 三上直朗, 石倉健司. 新生児の腎疾患と遺伝. 周産期医学 2012; 42: 1167-1174
15. 山田剛史, 原田涼子, 長岡由修, 池宮城雅子, 濱田陸, 坂井智行, 濱崎祐子, 石倉健司, 幡谷浩史, 本田雅敬. クロルヘキシジン消毒下における出口部感染症起因菌の変化. 日本小児腎不全学会雑誌 2012; 32: 75-76
16. 坂井智行, 幡谷浩史, 濱田陸, 山田剛史, 池宮城雅子, 長岡由修, 原田涼子, 濱崎祐子, 石倉健司, 本田雅敬, 後藤知英, 宮川正, 清水直樹. 腹膜透析管理中に PRES(Posterior reversible encephalopathy syndrome)による頭蓋内圧亢進のため開頭減圧術を要した 1 例. 日小児腎不全会誌. 2012; 32: 77
17. 原田涼子, 長岡由修, 池宮城雅子, 山田剛史, 濱田陸, 坂井智行, 濱崎祐子, 石倉健司, 幡谷浩史, 本田雅敬. 強力な免疫抑制療法により寛解導入した肺出血合併急速進行性糸球体腎炎の 3 例. 日小児腎不全会誌. 2012; 32: 305
18. 濱田陸, 幡谷浩史, 山田剛志, 坂井智行, 濱崎祐子, 石倉健司, 本田雅敬. 当院での PD 関連感染性腹膜炎の起炎菌調査ならびに empiric therapy の再考. 日小児 PDHD 研会誌. 2012; 24: 19-22

## 2. 学会発表

1. 山田剛史, 幡谷浩史, 原田涼子, 長岡由修, 池宮城雅子, 濱田陸, 坂井智行, 濱崎祐子, 石倉健司, 本田雅敬, 福澤龍二, 緒方謙太郎. 新生児期より蛋白尿、腎機能障害を認め、生検にて分節性硬化を伴う膜性増殖性糸球体腎炎 (MPGN) 様の病理像を示した 1 例. 第 78 回関東小児腎臓研究会, 東京, 2012 年 1 月
2. 濱田陸, 幡谷浩史, 坂井智行, 濱崎祐子, 石倉健司, 本田雅敬, 松井善一, 佐藤裕之, 村松真樹, 宍戸新一郎. 思春期早期腎移植における成長 catch-up の獲得. 第 45 回日本臨床腎移植学会, 長野, 2012 年 2 月
3. 濱崎祐子, 幡谷浩史, 濱田陸, 坂井智行, 石倉健司, 本田雅敬, 松井善一, 佐藤裕之, 村松真樹, 宍戸新一郎. フィンランド型先天性ネフローゼ症候群に対する腎移植と予後. 第 45 回日本臨床腎移植学会, 長野, 2012 年 2 月
4. 三上直朗, 石倉健司, 濱田陸, 坂井智行, 濱崎祐子, 幡谷浩史, 吉田雅治, 本田雅敬. 抗糸球体基底膜抗体腎炎の 2 症例. 第 115 回日本小児科学会, 福岡, 2012 年 4 月
5. 長岡由修, 濱田陸, 坂井智行, 濱崎祐子, 石倉健司, 幡谷浩史, 本田雅敬, 三浦大, 福澤龍二, 上牧勇. 心タンポナーデを契機に診断した全身性エリテマトーデスの 2 例. 第 115 回日本小児科学会, 福岡, 2012 年 4 月
6. 石倉健司. 疫学研究のすすめ—小児 CKD 全国実態調査から学んだこと—. 第 47 回日本小児腎臓病学会, 東京, 2012 年 6 月
7. 寺野千香子, 石倉健司, 原田涼子, 長岡由修, 池宮城雅子, 山田剛史, 濱田陸, 坂井智行, 濱崎祐子, 幡谷浩史, 本田雅敬, 三浦大. 心不全に対するアンギオテンシン変換酵素阻害薬/アンギオテンシン II 受容体拮抗薬治療中の急性腎傷害. 第 47 回日本小児腎臓病学会, 東京, 2012 年 6 月
8. 長岡由修, 坂井智行, 濱田陸, 原田涼子, 池宮城雅子, 山田剛史, 濱崎祐子, 石倉健司, 幡谷浩史, 本田雅敬. 小児特発性ネフローゼ症候群に合併する急性腎障害 (NS-AKI) の特徴. 第 47 回日本小児腎臓病学会, 東京, 2012 年 6 月
9. 三上直朗, 濱崎祐子, 池宮城雅子, 山田剛史, 濱田陸, 坂井智行, 石倉健司, 幡谷浩史, 緒方謙太郎, 福澤龍二, 本田雅敬. 乳児期に発症し尿細管基底膜にも沈着を示した膜性腎症の 1 例. 第 47 回日本小児腎臓病学会, 東京, 2012 年 6 月
10. 濱崎祐子, 石倉健司, 原田涼子, 長岡由修, 池宮城雅子, 山田剛史, 濱田陸, 坂井智行, 幡谷浩史, 本田雅敬, 中西浩一, 吉川徳茂. フィンランド型先天性ネフローゼ症候群の腎移植までの管理. 第 47 回日本小児腎臓病学会, 東京, 2012 年 6 月
11. 坂井智行, 石倉健司, 原田涼子, 長岡由修, 池

- 宮城雅子, 山田剛史, 濱田陸, 濱崎祐子, 幡谷浩史, 本田雅敬, 安藤高志. 小児特発性ネフローゼ症候群患児における副腎皮質ステロイドの副作用は身長より骨密度への影響が大きい. 第47回日本小児腎臓病学会, 東京, 2012年6月
12. 小牧文代, 坂井智行, 石倉健司, 原田涼子, 長岡由修, 池宮城雅子, 山田剛史, 濱田陸, 濱崎祐子, 幡谷浩史, 本田雅敬. 腎血管筋脂肪腫に対し、腎動脈塞栓術を要した結節性硬化症の一例. 第47回日本小児腎臓病学会, 東京, 2012年6月
13. 原田涼子, 濱田陸, 長岡由修, 坂井智行, 池宮城雅子, 山田剛史, 濱崎祐子, 石倉健司, 幡谷浩史, 本田雅敬, 堀越裕歩. 寛解導入療法中 Clostridium difficile 関連腸炎を発症した MPO-ANCA 陽性急速進行性糸球体腎炎の女児例. 第47回日本小児腎臓病学会, 東京, 2012年6月
14. 濱田陸, 幡谷浩史, 坂井智行, 濱崎祐子, 石倉健司, 本田雅敬, 松井善一, 佐藤裕之, 村松真樹, 宍戸清一郎. 思春期前腎移植患児の二次性徴・思春期成長. 第47回日本小児腎臓病学会, 東京, 2012年6月
15. 永井琢人, 上村治, 石倉健司, 伊藤秀一, 幡谷浩史, 秋岡祐子, 後藤芳充, 山田拓司, 本田雅敬, 小児慢性腎臓病対策委員会. 日本人小児の推算 GFR 式 (2歳以上12歳未満). 第47回日本小児腎臓病学会, 東京, 2012年6月
16. 池宮城雅子, 幡谷浩史, 原田涼子, 長岡由修, 山田剛史, 濱田陸, 坂井智行, 濱崎祐子, 石倉健司, 本田雅敬. 腎性尿崩症として管理された若年性ネフロン癆の一例. 第47回日本小児腎臓病学会, 東京, 2012年6月
17. 山田剛史, 幡谷浩史, 原田涼子, 長岡由修, 池宮城雅子, 濱田陸, 坂井智行, 濱崎祐子, 石倉健司, 本田雅敬. ムピロシン鼻腔用軟膏の出口部塗布は、小児の黄色ブドウ球菌出口部感染を予防する. 第55回日本腎臓学会, 横浜, 2012年6月
18. 長岡由修, 坂井智行, 濱田陸, 原田涼子, 池宮城雅子, 山田剛史, 濱崎祐子, 石倉健司, 幡谷浩史, 本田雅敬. 小児ネフローゼ症候群では循環血漿量保持型の急性腎障害が多い. 第55回日本腎臓学会, 神奈川, 2012年6月
19. 石倉健司, 吉川徳茂, 仲里仁史, 佐々木聡, 飯島一誠, 中西浩一, 松山健, 伊藤秀一, 濱崎祐子, 矢田菜穂子, 安藤高志, 本田雅敬. 小児頻回再発ネフローゼ症候群の長期再発傾向: ランダム化比較試験のフォローアップ研究. 第13回東京腎炎・ネフローゼ研究会, 東京, 2012年7月
20. 奥田雄介, 濱田陸, 篠塚俊介, 長谷幸治, 寺野千香子, 原田涼子, 長岡由修, 坂井智行, 板橋淑裕, 佐藤裕之, 石倉健司, 幡谷浩史, 本田雅敬. 著明な電解質異常を契機に発見された片側性完全重複腎盂尿管症の1例. お茶の水腎カンファレンス, 東京, 2012年7月
21. 奥田雄介, 濱田陸, 篠塚俊介, 長谷幸治, 寺野千香子, 原田涼子, 長岡由修, 坂井智行, 板橋淑裕, 佐藤裕之, 石倉健司, 幡谷浩史, 本田雅敬. 著明な電解質異常を契機に発見された片側性完全重複腎盂尿管症の1例. 第34回日本小児体液研究会, 東京, 2012年8月
22. 寺野千香子, 石倉健司, 奥田雄介, 篠塚俊介, 長谷幸治, 長岡由修, 濱田陸, 坂井智行, 幡谷浩史, 本田雅敬, 三浦大. 心不全に対するアンギオテンシン変換酵素阻害薬・アンギオテンシンII受容体拮抗薬治療中の急性腎傷害. 第34回日本小児体液研究会, 東京, 2012年8月
23. 石倉健司, 上村治, 伊藤秀一, 和田尚弘, 服部元史, 大橋靖雄, 濱崎祐子, 田中亮二郎, 中西浩一, 本田雅敬. 小児保存期CKD患者の末期腎不全への進行の解明: 小児CKD患者を対象とした患者登録システムの確立と長期予後の解明のための調査研究の結果. 第34回日本小児腎不全学会, 兵庫, 2012年9月
24. 濱崎祐子, 上村治, 伊藤秀一, 和田尚弘, 服部元史, 大橋靖雄, 石倉健司, 本田雅敬, 田中亮二郎, 中西浩一. 本邦小児保存期慢性腎臓病患者における成長の実態 (2011年度調査の結果). 第34