

尿中バイオマーカーのELISAによる測定

研究分担者 江口潤・岡山大学病院・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教

研究分担者 中司敦子・岡山大学院医歯薬学総合研究科・糖尿病性腎症治療学講座・助教

研究分担者 勅使川原早苗・岡山大学院医歯薬学総合研究科・地域医療人材育成講座・助教

研究要旨

糖尿病性腎症の新規バイオマーカー候補として同定されたhaptoglobin, α 2-macroglobulin, apolipoprotein A-I, protein AMBP (α 1-microglobulin), ceruloplasmin, α 1-acid glycoprotein (orosomuroid), α 2-HS-glycoprotein (fetuin-A), angiotensinogenを糖尿病性腎症正常アルブミン尿期(n=36)、微量アルブミン尿期(n=25)、顕性蛋白尿期(n=24)の尿サンプルで測定した。測定感度以下とならず安定して測定できたのは、 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-Aであった。 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-Aは既報でシアル酸蛋白質であることが報告されているため、これら3つの尿中マーカーについて糖尿病や腎症の臨床データとの横断的な比較検討を行った。 α 1-microglobulinは腎臓の間質マーカーとして保険収載されており、またorosomuroidは糖尿病性腎症の尿中マーカーとして報告されているが、尿中fetuin-AについてはELISAによる尿中濃度の検討はまだ報告がない。 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-Aの尿中濃度は血清クレアチニン、尿素窒素、尿中アルブミン排泄量(ACR)と正の相関を示し、また血清アルブミン、HDL-コレステロール、eGFRと負の相関を示した。eGFR、尿中アルブミン排泄量(ACR)、HDL-コレステロールを独立変数として、尿中 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-A排泄量をそれぞれ従属変数として重回帰分析を施行した。尿中 α 1-microglobulin排泄量に関しては、eGFRと尿中微量アルブミン(ACR)が、尿中fetuin-A排泄量に関しては尿中アルブミン排泄量(ACR)が有意差をもって独立した説明変数であることが示された。さらに尿中orosomuroid排泄量に関しては、尿中アルブミン排泄量(ACR)とHDL-コレステロールが有意差をもって独立した説明変数であることが明らかとなった。微量アルブミン尿陽性あるいはeGFR 60 mL/min未満に対するリスク因子として尿中 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-A排泄量を比較した。ステップワイズ多項ロジスティック解析を施行した結果、微量アルブミン尿陽性あるいはeGFR 60 mL/min未満に対するリスク因子として尿中fetuin-A排泄量のみが採択された。

研究分担者

江口潤（岡山大学病院・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教）、中司敦子（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・糖尿病性腎症治療学講座・助教）、勅使川原早苗（岡山大学院医歯薬学総合研究科・地域医療人材育成講座・助教）

A．研究目的

糖尿病性腎症の新規バイオマーカー候補として同定された haptoglobin, α 2-macroglobulin, apolipoprotein A-I, protein AMBP (α 1-microglobulin), ceruloplasmin, α 1-acid glycoprotein (orosomuroid), α 2-HS-glycoprotein (fetuin-A), angiotensinogen を糖尿病性腎症患者の尿サンプルを用いて測定した。尿サンプルは糖尿病性腎症正常アルブミン尿期(n=36)、微量アルブミン尿期(n=25)、顕性蛋白尿期(n=24)の患者から採取した。

B．研究方法

尿サンプルを用いたELISA測定

N-抗血清ハプトグロビン、N-抗血清 α 2-マクログロブリン、N-抗血清セルロプラスミン、N-抗血清 α 2-アシッドグリコプロテイン(シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス)、アポA-Iオート・N「第一」(積水メディカル)、LZテスト栄研 α 1-M(栄研化学)、Human Fetuin-A ELISA (BioVender)、Human Total Angiotensinogen Assay Kit-IBL (IBL)を用いて尿中の濃度を測定し、クレアチニン補正を行うことによって検討した。

C．研究結果

Haptoglobin, α 2-macroglobulin, apolipoprotein A-I, protein AMBP (α 1-microglobulin), ceruloplasmin, α 1-acid glycoprotein (orosomuroid), α 2-HS-glycoprotein (fetuin-A), angiotensinogenのうち測定感度以下とならず安定して測定できたのは、 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-A, angiotensinogenであった。 α 1-microglobulin, orosomuroid, fetuin-Aは既報でシアル酸蛋白質であることが報告されているため、これら3つの尿

中マーカーについて糖尿病や腎症の臨床データとの横断的に比較検討を行った。なお $\alpha 1$ -microglobulinは腎臓の間質マーカーとして保険収載されており、またorosomuoidは糖尿病性腎症の尿中マーカーとして報告されているが、尿中fetuin-AについてはELISAによる尿中濃度の検討はまだ報告がない。

アルブミン尿のステージ (A1, A2, A3) の進行に従って、年齢、血清総蛋白、血清アルブミン、血清クレアチニン、尿素窒素、尿酸、HDL-コレステロール、eGFR、尿中アルブミン排泄量(ACR)は有意差を持って変化した (Kruskal-Wallisテスト) (表1)。さらに $\alpha 1$ -microglobulin, orosomuoid, fetuin-Aの尿中濃度のいずれもが有意差をもってアルブミン尿の病期の進行に従って上昇した(表1、図1)。さらにGFRステージ (G1, G2, G3, G4) の進行に従って、血清総蛋白、血清アルブミン、血清クレアチニン、尿素窒素、尿酸、eGFR、尿中アルブミン排泄量 (ACR) が有意差を持って変化した (Kruskal-Wallisテスト) (表2)。またアルブミン尿病期と同様に、GFRの病期の進行によって $\alpha 1$ -microglobulin, orosomuoid, fetuin-Aの尿中濃度のいずれもが有意差をもって上昇した(表2、図1)。

$\alpha 1$ -microglobulin, orosomuoid, fetuin-Aの尿中濃度は血清クレアチニン、尿素窒素、尿中アルブミン排泄量 (ACR) と正の相関を示し、また血清アルブミン、HDL-コレステロール、eGFRと負の相関を示した (表3、図2)。eGFR、尿中アルブミン排泄量 (ACR)、HDL-コレステロールを独立変数として、尿中 $\alpha 1$ -microglobulin, orosomuoid, fetuin-A排泄量をそれぞれ従属変数として重回帰分析を施行した。尿中 $\alpha 1$ -microglobulin排泄量に関しては、eGFRと尿中微量アルブミン (ACR) が、尿中fetuin-A排泄量に関しては尿中アルブミン排泄量 (ACR) が有意差をもって独立した説明変数であることが示された (表4)。さらに尿中orosomuoid排泄量に関しては、尿中アルブミン排泄量 (ACR) とHDL-コレステロールが有意差をもって独立した説明変数であることが明らかとなった (表4)。

さらにステップワイズ多項ロジスティック解析を施行した。微量アルブミン尿陽性あるいはeGFR 60 mL/min未満に対するリスク因子として尿中 $\alpha 1$ -microglobulin, orosomuoid, fetuin-A排泄量を検討した。ステップ多項ワイズロジスティック解析では微量アルブミン尿陽性あるいはeGFR 60 mL/min未満に対するリスク因子として尿中fetuin-A排泄量のみが採択された (表5)。

D . 考察

本研究においてシアル酸含有糖蛋白質であるfetuin-Aの尿中排泄量が安定して測定可能であり、かつ糖尿病性腎症の新たな尿中バイオマーカーであることが示された。Fetuin-Aは肝臓より産生される64 kDaの糖蛋白質である。Fetuin-Aは肥満状態で発現が亢進し、それは脂肪細胞におけるアディポネクチンmRNAの発現を抑制して血清アディポネクチン濃度を低下させると報告されている。それによってインスリン抵抗性、糖尿病と腎症の進展が促進されると考えられている。さらにfetuin-Aは遊離脂肪酸(FFA)の担体でありそれがToll-like receptor 4 (TLR4)に結合することも報告されている。FFA-fetuin-A複合体はTLR4受容体を刺激して脂質による炎症を惹起して糖尿病における慢性炎症とそれによるインスリン抵抗性を惹起していると最近報告されている。

糖尿病患者の血中fetuin-A濃度は大血管障害と相関があるという報告がある一方、細小血管障害とは相関がないとの報告や、微量アルブミン尿が陽性の糖尿病患者や動脈硬化の認められる糖尿病では血中fetuin-A濃度が低いとの報告もあり、一定の見解が得られていない。

一方尿中fetuin-A排泄量は尿中アルブミン排泄量 (ACR) と正の相関を呈し、eGFRと負の相関を呈した。また横断研究ではあるが、ステップワイズロジスティック解析では微量アルブミン尿陽性あるいはeGFR 60 mL/min未満に対するリスク因子として尿中fetuin-A排泄量のみが採択された。従って本研究によって糖尿病性腎症の進展を予測するバイオマーカーの候補であることが示された。尿中fetuin-A排泄量の増加は肝臓での産生増加や糸球体毛細血管における透過性、あるいは尿細管の再吸収など複数の要因が関与していると考えられる。

E . 結論

糖尿病性腎症の新規バイオマーカーとしては、haptoglobin, $\alpha 2$ -macroglobulin, apolipoprotein A-I, protein AMBP ($\alpha 1$ -microglobulin), ceruloplasmin, $\alpha 1$ -acid glycoprotein (orosomuoid), $\alpha 2$ -HS-glycoprotein (fetuin-A), angiotensinogenを糖尿病性腎症患者の尿サンプルを用いて測定した。感度以下とならず安定して測定できたのは、 $\alpha 1$ -microglobulin, orosomuoid, fetuin-A, angiotensinogenであった。尿中fetuin-A排泄量は尿中アルブミン排泄量と正の相関を、eGFRと負の相関を示し、新たな糖尿病性腎症の尿中バイオマーカーであると考えられた。

F . 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nakatsuka A, Wada J, Makino H. Cell cycle abnormality in metabolic syndrome and nuclear receptors as an emerging therapeutic target. *Acta Medica Okayama* 67(3), 129-134, 2013

Inoue K, Wada J, Eguchi J, Nakatsuka A, Teshigawara S, Murakami K, Ogawa D, Terami T, Katayama A, Tone A, Iseda I, Hida K, Yamada M, Ogawa T, Makino H. Urinary fetuin-A is a novel marker for diabetic nephropathy in type 2 diabetes identified by lectin microarray. *PLoS ONE* 8(10): e77118, 2013

Terami T, Wada J, Inoue K, Nakatsuka A, Ogawa D, Teshigawara S, Murakami K, Katayama A, Eguchi J, Makino H. Urinary angiotensinogen is a marker for tubular injuries in patients with type 2 diabetes. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 6, 233-240, 2013

2. 学会発表

糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングによる新規バイオマーカーの同定(U-CARE 研究) 和田淳、井上謙太郎、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、黒瀬祐子、片山晶博、樋口千草、渡邊真由、小川智央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会(東京)平成 25 年 5 月 10 日

Vaspin による小胞体ストレス制御と糖尿病性腎症の治療 中司敦子、和田淳、勅使川原早苗、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、江口潤、小川大輔、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会(東京)平成 25 年 5 月 10 日

糖尿病性腎症における PEMT 阻害の意義 中司敦子、和田淳、渡邊真由、勅使川原早苗、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、江口潤、小川大輔、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会(東京)平成 25 年 5 月 11 日

マウス腎および培養腎細胞における核内受容体の発現と高糖濃度刺激による発現変化の検討 寺見直人、小川大輔、橘洋美、堀口千景、小寺亮、江口潤、中司敦子、和田淳、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会(東京)平成 25 年 5 月 11 日

嚢胞形成の新規分子機構 - ACAM/CLMP 欠損マウスの解析 - 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、佐藤美和、寺見直人、小川

大輔、槇野博史 第 56 回日本腎臓学会学術総会(東京)平成 25 年 5 月 12 日

内臓脂肪蓄積に伴って強発現する膜蛋白 Gpnmb の脂肪肝炎抑制効果と可溶性分泌型の関与 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、渡邊真由、樋口千草、肥田和之、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成 25 年 5 月 16 日

Vaspin inhibits apoptosis of endothelial cells as ligand for cell-surface GRP78/VDAC complex. J Wada, A Nakatsuka, S Teshigawara, K Murakami, T Terami, K Inoue, A Katayama, C Higuchi, M Watanabe, J Eguchi, H Makino. 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成 25 年 5 月 17 日

メタボリックシンドロームにおける Galectin-9-Tim-3 経路の意義 勅使川原早苗、和田淳、神崎資子、江口潤、中司敦子、村上和敏、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成 25 年 5 月 17 日

ACAM (adipocyte adhesion molecule) /CLMP の脂肪分化と肥満症における意義 村上和敏、和田淳、江口潤、中司敦子、寺見隆宏、井上謙太郎、片山晶博、勅使川原早苗、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成 25 年 5 月 17 日

糖尿病マウス腎および高糖濃度刺激下での培養腎細胞における核内受容体の発現解析 寺見直人、小川大輔、橘洋美、堀口千景、小寺亮、江口潤、中司敦子、和田淳、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成 25 年 5 月 17 日

糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングの検討 井上謙太郎、和田淳、小川大輔、中司敦子、江口潤、村上和敏、神崎資子、寺見隆宏、勅使川原早苗、片山晶博、小川智央、山田雅雄、四方賢一、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成 25 年 5 月 18 日

メタボリックシンドロームにおける脂肪組織由来血清 miRNA の同定 樋口千草、和田淳、中司敦子、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、渡邊真由、江口潤、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)平成 25 年 5 月 18 日

メタボリックシンドロームにおける phosphatidylethanolamine N-methyltransferase(PEMT)の意義 中司敦子、

和田淳、村上和敏、勅使川原早苗、井上謙太郎、寺見隆宏、片山晶博、渡邊真由、樋口千草、江口潤、槇野博史 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本) 平成 25 年 5 月 18 日

Nuclear Hormone Receptor Expression in Mouse Kidney and Renal Cell Lines. D Ogawa, J Eguchi, H Tachibana, C Sato-Horiguchi, T. Hatanaka, A Nakatsuka, J Wada, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 22, 2013

Phosphatidylethanolamine N-Methyltransferase (PEMT) Deficiency Protects from Obesity and Insulin Resistance but Promote Steatohepatitis with Tumorigenesis. A Nakatsuka, J Wada, K Murakami, T Terami, J Eguchi, D Ogawa, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 23, 2013

ACAM (Adipocyte Adhesion Molecule) / CLMP Inhibits Adipocyte Hypertrophy in Obesity. K Murakami, J Wada, J Eguchi, D Ogawa, T Terami, N Terami, H Makino. ADA 73th Scientific Session. (Chicago) June 23, 2013
肥満において Pemt 欠損がもたらす脂肪肝炎とエピゲノム 中司敦子、和田淳、渡邊真由、樋口千草、天田雅文、布上朋和、片山晶博、寺見隆宏、勅使川原早苗、村上和敏、江口潤、槇野博史 第 34 回日本肥満学会年次学術集

会 (東京) 平成 25 年 10 月 12 日
内臓脂肪蓄積に伴って強発現する膜蛋白 Gpmb の脂肪肝炎抑制効果と可溶性分泌型の関与 片山晶博、和田淳、中司敦子、江口潤、村上和敏、勅使川原早苗、寺見隆宏、樋口千草、布上朋和、天田雅文、四方賢一、肥田和之、槇野博史 第 34 回日本肥満学会年次学術集会 (東京) 平成 25 年 10 月 12 日

H . 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表1 アルブミン尿のステージ (A1, A2, A3) における臨床パラメータの比較 (2 型糖尿病患者 n=85)

	A1	A2	A3	Total	Kruskal-Wallis
Number (male/female)	36 (19 / 17)	25 (15 / 10)	24 (15 / 9)	85 (49 / 36)	
Age (years)	63.8±11.3	61.0±12.5	63.3±12.3	62.9±11.3	0.006*
BMI (kg/m ²)	24.8±5.1	25.7±4.5	24.2±3.9	24.9±4.6	0.543
SBP (mmHg)	124.0±12.6	129.5±20.5	126.0±19.7	126.2±17.3	0.484
DBP (mmHg)	73.9±10.3	72.6±8.1	69.1±14.4	72.2±11.1	0.261
HbA1c (%)	7.31±0.64	7.24±0.90	7.38±1.17	7.31±0.87	0.850
Total protein (g/L)	70.4±4.3	70.7±4.8	66.1±6.5	69.3±5.4	0.003*
Albumin (g/L)	42.9±2.5	41.2±3.2	35.7±7.0	40.4±5.3	1.80x10 ^{-16**}
Cr (μmol/L)	66.4±13.3	78.3±26.3	144.2±70.3	91.9±52.3	4.86x10 ^{-10**}
UN (μmol/L)	5.5±1.5	7.1±2.7	10.0±3.8	7.3±3.3	5.92x10 ^{-8**}
Uric acid (μmol/L)	305.8±61.5	352.8±96.2	396.2±68.0	344.6±83.1	9.68x10 ^{-5**}
T-Chol (mmol/L)	5.09±0.94	4.86±0.84	5.06±1.14	4.99±0.97	0.689
TG (mmol/L)	1.65±0.92	1.70±1.10	2.16±1.74	1.81±1.26	0.780
HDL-C (mmol/L)	1.49±0.41	1.35±0.31	1.23±0.39	1.38±0.39	0.031*
LDL-C (mmol/L)	2.85±0.81	2.70±0.65	2.80±0.95	2.79±0.80	0.271
eGFR (mL/min)	74.5±16.3	67.9±19.2	42.4±19.0	63.5±22.4	6.66x10 ^{-9**}
ACR (mg/gCr)	12.7±6.0	114.3±72.6	1424±996	441.2±812	1.81x10 ^{-16**}
Fetuin-A (ng/gCr)	0.40±0.43	0.60±0.53	1.57±1.13	0.79±0.87	7.29x10 ^{-8**}
α1-microglobulin (μg/gCr)	4.24±4.03	6.30±5.12	17.83±18.08	8.68±11.74	8.84x10 ^{-9**}
Orosomuroid (ng/gCr)	17.5±9.1	17.9±8.7	91.4±87.2	38.5±57.0	3.34x10 ^{-8**}

BMI, body mass index; SBP, Systolic Blood Pressure; DPB, Diastolic Blood Pressure; Cr, serum creatinine; UN, serum urea nitrogen; T-Chol, Total cholesterol; TG, Triglyceride; HDL-C, HDL cholesterol; LDL-C, LDL cholesterol; eGFR, estimated glomerular filtration ratio; ACR, albumin / creatinine ratio; *, p < 0.05; **, p < 0.01.

表2 GFR ステージ (G1, G2, G3, G4) における臨床パラメータの比較 (2型糖尿病患者 n=85)

	G1	G2	G3	G4	Total	Kruskal-Wallis
Number (male/female)	9 (6 / 3)	42 (22 / 20)	29 (19 / 10)	5 (2 / 3)	85 (49 / 36)	
Age (years)	51.9±13.9	62.9±10.3	66.5±9.2	59.6±15.3	62.9±11.3	0.647
BMI (kg/m ²)	27.6±8.1	25.1±4.6	24.1±3.1	22.6±2.2	24.9±4.6	0.155
SBP (mmHg)	129.7±13.8	127.6±17.3	124.0±19.1	120.2±11.1	126.2±17.3	0.640
DBP (mmHg)	76.5±13.8	74.6±8.0	69.5±12.4	59.4±9.2	72.2±11.1	0.006
HbA1c (%)	7.54±0.79	7.27±0.83	7.40±0.94	6.68±0.82	7.31±0.87	0.323
Total protein (g/L)	70.4±3.7	70.9±4.4	67.6±6.2	63.0±5.0	69.3±5.44	0.002*
Albumin (g/L)	41.4±4.6	42.3±2.9	38.3±6.6	33.4±5.0	40.4±5.3	1.10x10 ^{-4**}
Cr (μmol/L)	60.9±16.0	65.9±11.6	115.7±40.7	227.1±88.2	91.9±52.3	1.89 x10 ^{-17**}
UN (μmol/L)	5.5±2.2	5.8±1.6	8.6±2.7	14.6±5.1	7.3±3.3	9.85x10 ^{-12**}
Uric acid (μmol/L)	329.1±39.5	312.8±74.4	388.7±82.6	391.4±99.8	344.6±83.1	6.59 x10 ^{-4**}
T-Chol (mmol/L)	5.11±0.96	4.97±0.89	5.06±1.02	4.52±1.39	4.99±0.97	0.695
TG (mmol/L)	2.04±1.30	1.68±1.06	1.95±1.57	1.58±0.63	1.81±1.26	0.487
HDL-C (mmol/L)	1.25±0.26	1.44±0.37	1.32±0.41	1.45±0.51	1.38±0.39	0.427
LDL-C (mmol/L)	2.96±0.95	2.79±0.67	2.83±0.92	2.28±0.87	2.79±0.80	0.740
eGFR (mL/min)	96.2±15.6	74.8±8.1	44.4±9.2	20.6±8.3	63.5±22.4	1.16x10 ^{-30**}
ACR (mg/gCr)	179.7±451.6	108.3±227.7	824.5±0.80	1484±1168	441.2±812	1.09x10 ^{-5**}
Fetuin-A (ng/gCr)	0.39±0.39	0.49±0.45	1.25±1.18	1.34±0.80	0.79±0.87	3.89x10 ^{-4**}
α1-microglobulin (μg/gCr)	3.74±4.26	4.94±4.92	11.90±11.04	30.32±29.93	8.68±11.74	2.49x10 ^{-6**}
Orosomuroid (ng/gCr)	22.5±11.4	19.7±14.8	62.7±84.3	84.4±69.4	38.5±57.0	2.21x10 ^{-3**}

BMI, body mass index; SBP, Systolic Blood Pressure; DPB, Diastolic Blood Pressure; Cr, serum creatinine; UN, serum urea nitrogen; T-Chol, Total cholesterol; TG, Triglyceride; HDL-C, HDL cholesterol; LDL-C, LDL cholesterol; eGFR, estimated glomerular filtration ratio; ACR, albumin / creatinine ratio; *, p < 0.05; **, p < 0.01.

表3 尿中シアル酸糖蛋白質排泄量と臨床パラメータとの単相関 (2 型糖尿病患者 n=85)

	Fetuin-A (ng/gCr)	α 1-microglobulin (μ g/gCr)	Orosomuroid (ng/gCr)
Age (years)	R=0.009, p=0.937	R=0.123, p=0.261	R=-0.008, p=0.944
BMI (kg/m ²)	R=-0.139, p=0.205	R=-0.067, p=0.541	R=-0.032, p=0.770
SBP (mmHg)	R=0.043, p=0.693	R=-0.005, p=0.964	R=0.103, p=0.348
DBP (mmHg)	R=-0.145, p=0.186	R=-0.214, p=0.049*	R=-0.027, p=0.807
HbA1c (%)	R=0.113, p=0.307	R=0.110, p=0.318	R=0.056, p=0.612
Total protein (g/L)	R=-0.261, p=0.017*	R=-0.275, p=0.012*	R=-0.213, p=0.053
Albumin (g/L)	R=-0.377, p=4.36x10 ^{-4**}	R=-0.376, p=4.67x10 ^{-4**}	R=-0.394, p=2.28x10 ^{-4**}
Cr (μ mol/L)	R=0.368, p=5.23x10 ^{-4**}	R=0.388, p=2.40x10 ^{-4**}	R=0.399, p=1.53x10 ^{-4**}
UN (μ mol/L)	R=0.405, p=1.31x10 ^{-4**}	R=0.439, p=2.96x10 ^{-5**}	R=0.363, p=6.85x10 ^{-4**}
Uric acid (μ mol/L)	R=0.079, p=0.474	R=0.073, p=0.509	R=0.295, p=0.006**
T-Cho (mmol/L)	R=-0.099, p=0.372	R=-0.080, p=0.471	R=0.062, p=0.576
TG (mmol/L)	R=0.060, p=0.582	R=0.055, p=0.615	R=0.186, p=0.088
HDL-C (mmol/L)	R=-0.313, p=0.004**	R=-0.258, p=0.017*	R=-0.244, p=0.025*
LDL-C (mmol/L)	R=-0.007, p=0.948	R=-0.043, p=0.697	R=0.067, p=0.544
eGFR (mL/min)	R=-0.395, p=1.80x10 ^{-4**}	R=-0.472, p=5.23x10 ^{-6**}	R=-0.431, p=3.90x10 ^{-5**}
ACR (mg/gCr)	R=0.548, p=5.76x10 ^{-8**}	R=0.466, p=7.02x10 ^{-6**}	R=0.652, p=1.40x10 ^{-11**}

BMI, body mass index; SBP, Systolic Blood Pressure; DPB, Diastolic Blood Pressure; Cr, serum creatinine; UN, serum urea nitrogen; T-Cho, Total cholesterol; TG, Triglyceride; HDL-C, HDL cholesterol; LDL-C, LDL cholesterol; eGFR, estimated glomerular filtration ratio; ACR, albumin / creatinine ratio; *, p < 0.05; **, p < 0.01.

表4 尿中シアル酸糖蛋白質排泄量を従属変数とした重回帰分析（2型糖尿病患者 n=85）

Dependent variable	Independent variable	Unstandardized coefficient		Standardized coefficient	t value	P value	Adjusted R ²
		B	Standard error	β			
Fetuin-A (ng/gCr)	eGFR (mL/min)	-0.076	0.042	-0.196	-1.813	0.074	0.335
	ACR (mg/gCr)	0.004	0.001	0.395	3.645	4.71x10 ^{-4**}	
	HDL-C (mmol/L)	-4.048	2.035	-0.182	-1.989	0.050	
α1-microglobulin (μg/gCr)	eGFR (mL/min)	-0.138	0.053	-0.263	-2.617	0.011*	0.423
	ACR (mg/gCr)	0.007	0.001	0.461	4.560	4.71x10 ⁻⁵	
	HDL-C (mmol/L)	-1.443	2.548	-0.048	-0.566	0.573	
Orosomucoid (ng/gCr)	eGFR (mL/min)	-0.136	0.212	-0.053	-0.642	0.523	0.605
	ACR (mg/gCr)	0.049	0.006	0.703	8.405	1.19x10 ^{-12**}	
	HDL-C (mmol/L)	-26.65	10.240	-0.183	-2.603	0.011	

Estimated glomerular filtration rate (eGFR), albumin / creatinine ratio and HDL cholesterol (HDL-C) are used as independent variables in stepwise multiple linear regression analysis in model 1. In model 2, all parameters are included in the analysis. *, p < 0.05; **, p < 0.01.

表5 ステップワイズ多項ロジスティック解析による微量アルブミン尿陽性あるいは eGFR 60 mL/min 未満のリスク因子としての尿中シアル酸糖蛋白質排泄量（2型糖尿病患者 n=85）

Risk factor for microalbuminuria	B	Standard error	p	Odds ratio (95% confident intervals)	Predictive accuracy
Fetuin-A (ng/gCr) (1SD increments)	1.784	0.539	9.424x10 ^{-4**}	4.721 (1.881-11.844)	74.1%

Risk factor for GFR < 60 mL/min	B	Standard error	p	Odds ratio (95% confident intervals)	Predictive accuracy
Fetuin-A (ng/gCr) (1SD increments)	1.516	0.434	4.755x10 ^{-4**}	3.739 (1.785-7.841)	72.9%

** , p < 0.01.

図1 アルブミン尿のステージ (A1, A2, A3) および GFR ステージ (G1, G2, G3, G4) における尿中アルブミンおよびシアル酸糖蛋白質排泄量 (2型糖尿病患者 n=85)

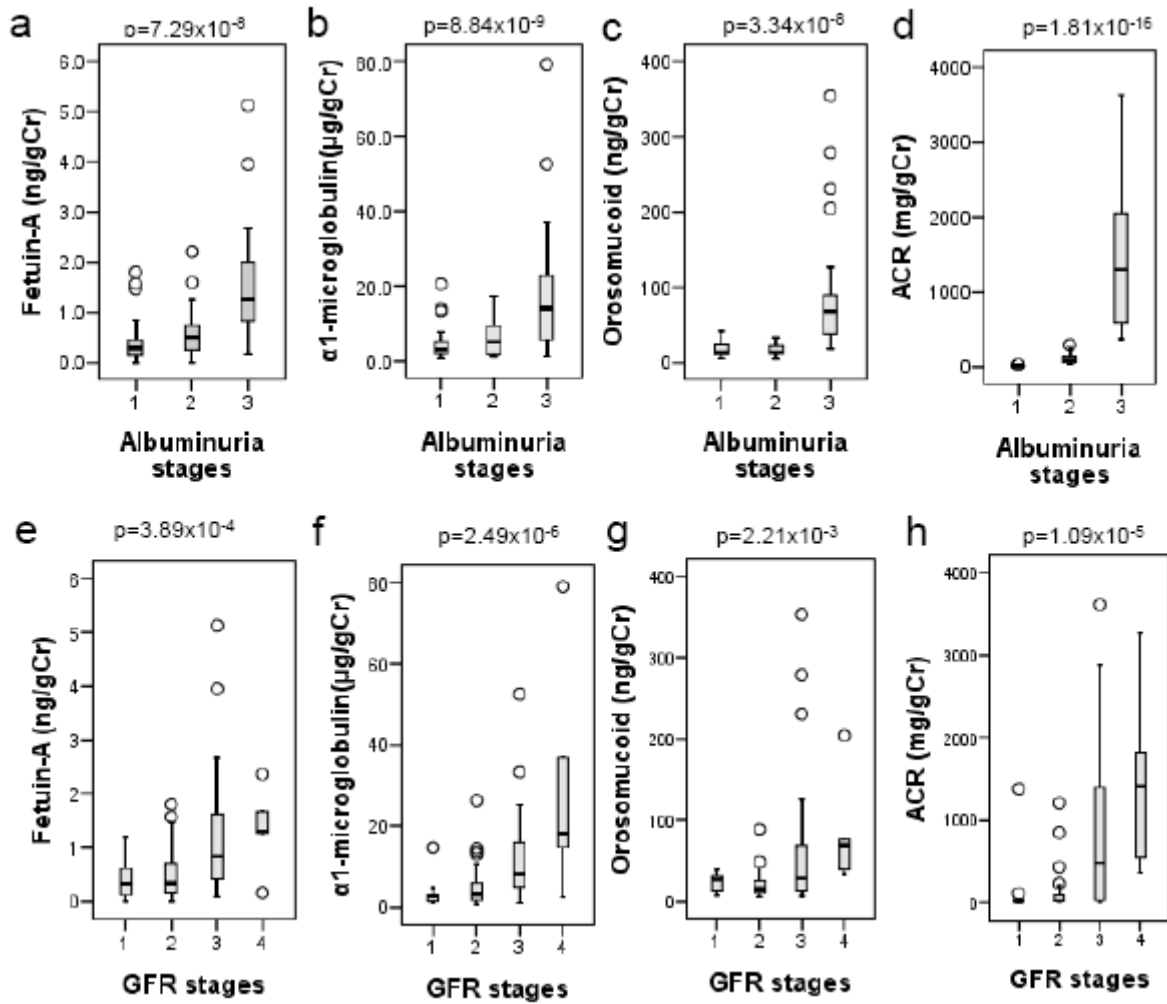


図2 アルブミン尿のステージ（A1, A2, A3）およびGFRステージ（G1, G2, G3, G4）における尿中アルブミンおよびeGFRとシアル酸糖蛋白質排泄量の単相関（2型糖尿病患者n=85）

