

新規尿中バイオマーカー同定のための糖尿病患者コホート研究

研究分担者 榎野博史・岡山大学院医歯薬学総合研究科・腎・免疫・内分泌代謝内科学・教授
研究分担者 肥田和之・独立行政法人国立病院機構岡山医療センター・糖尿病・代謝内科・医長
研究分担者 宮下雄博・岡山赤十字病院・総合内科・健診部長
研究分担者 松岡 孝・倉敷中央病院・糖尿病内科・主任部長
研究分担者 安藤晋一郎 岡山市立市民病院・糖尿病センター・副センター長

研究要旨

糖尿病患者のコホート研究を行うことにより、糖尿病性腎症の病期の進展や腎機能低下や末期腎不全への移行を予測し、尿中微量アルブミンを凌駕する新規尿中バイオマーカーを同定することとした。岡山大学病院および岡山県内の7病院で、糖尿病患者のゲノムDNAを平成24年に、血清・尿を平成24-26年度にわたって1年間に一度保存する。725例の症例組み入れがあり、糖尿病性腎症の進展を予測する上で尿中微量アルブミンを凌駕するような新規尿中バイオマーカーの候補としてfetuin Aの意義を確認するに十分な症例数を有するコホート研究が開始できた。平成24-26年度にわたって新規尿中バイオマーカーを測定しその有用性を検証する予定である。

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・教授）、肥田和之（独立行政法人国立病院機構岡山医療センター・糖尿病・代謝内科・医長）、宮下雄博（岡山赤十字病院・総合内科・健診部長）、松岡孝（倉敷中央病院・糖尿病内科・主任部長）、安藤晋一郎（岡山市立市民病院・糖尿病センター・副センター長）

A．研究目的

レクチンアレイ・レクチンアフィニティークロマトグラフィー・質量解析によって同定された尿中の糖蛋白質は糖尿病性腎症の新規尿中バイオマーカーの候補となる。現在尿中微量アルブミンが糖尿病性腎症の進展を予測するゴールドスタンダードと言えるが、尿中微量アルブミンをゴールドスタンダードとして比較する限りは、それを凌駕するような新規尿中バイオマーカーであるかどうかは判明しない。そこで糖尿病患者のコホート研究を行うことにより、糖尿病性腎症の病期の進展や腎機能低下や末期腎不全への移行を予測し、尿中微量アルブミンを凌駕する新規尿中バイオマーカーを同定することとした。

B．研究方法

岡山大学病院および岡山県内の7病院で、糖尿病患者のゲノムDNAを平成24年に、血清・尿を平成24-26年度にわたって1年間に一度血清と尿の検体を保存する。これらのサンプルを用いて、

本研究の過程で判明した新規尿中バイオマーカーの測定を行い、糖尿病性腎症の予後判定に有用な因子を同定する予定である。またゲノムDNAについては同定されたバイオマーカーの遺伝子上の一塩基多型(SNPs)の検討を予定している。

倫理面への配慮

本研究に参加される患者には、検体の採取(採血)に伴う肉体的苦痛とその対処法について説明し、文書による承諾書を得た。個人情報については連結可能匿名化を行った後、臨床データについては各々の施設で管理し、尿レクチンアレイや尿バイオマーカー・遺伝子多型情報は岡山大学で管理する。従ってそれぞれの機関から同時に情報が漏洩しない限り、個人と臨床データ・遺伝子多型を特定できない。送付されてきた検体および診療情報等は連結しにくくするためにさらに二重匿名化を行なう。また、情報は非ネット下にて解析し複数(最低3重)の施設下で管理し、指紋認証およびパスワード入力が必要な専用のコンピューターを使用し、複写禁止ソフトをインストールしてプリンター(紙媒体)やUSBなどの媒体に情報を移せないようにした上で関係者のみが情報解析を行う。なお本研究は岡山大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会において承認され、さらに7病院の倫理委員会においても承認されている。

C．研究結果

岡山大学病院および岡山県内の7病院で、平成

24年度に総計725例の症例の組み入れが終了し、患者の血清・尿・ゲノムDNAを保存した。平成25-26年度にわたって1年間に一度血清と尿の検体を保存する予定である。平成25年度は下記の725例中671症例をフォローアップしての検体を採取した。

岡山大学病院	151	例
岡山医療センター	68	例
岡山済生会	49	例
倉敷中央病院	90	例
榊原病院	50	例
津山中央病院	203	例
岡山赤十字病院	100	例
岡山市民病院	14	例
総計	725	例

D. 考察

コホート研究においては725例の症例組み入れがあり、糖尿病性腎症の進展を予測する上で尿中微量アルブミンを凌駕するような新規尿中バイオマーカーの候補としてfetuin Aの意義を確認する為に十分な症例数を有するコホート研究が開始できた。平成24-26年度にわたって新規尿中バイオマーカーとしての尿中fetuin A排泄量を測定しその有用性を検証する予定である。

E. 結論

糖尿病患者コホート研究を用いて、糖尿病性腎症の進展や治療効果を判定できる有用な新規尿中バイオマーカーとしての尿中fetuin A排泄量の意義を確認する予定である。

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
 Fujiwara D, Takahashi K, Suzuki T, Shii M, Nakashima Y, Takekawa S, Yoshida A, Matsuoka T. Postprandial serum C-peptide value is the optimal index to identify patients with non-obese type 2 diabetes who require multiple daily insulin injection: Analysis of C-peptide values before and after short-term intensive insulin therapy. *Journal of Diabetes Investigation* 4(6), 618-625, 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

2 型糖尿病のインスリン分泌の経年低下指標には何が最も役に立つか：断面調査より中井志保、鈴木貴博、和田侑子、志伊真和、中島佑佳子、藤原大介、武川郷、吉田淳、松岡 孝、高橋健二 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
糖尿病心血管系自律神経障害の早期診断における安静時心拍数の重要性 志伊真和、松岡 孝、和田侑子、中井志保、中島佑佳子、藤原大介、武川郷、吉田淳、鈴木貴博、高橋健二 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

糖毒性患者にインスリン療法導入後、6 ヶ月以内に離脱可能を推測させる導入前における内因性インスリン分泌能マーカーの検討 肥田和之、伊勢田泉、太田徹、林恭加、柴田祐助、利根淳仁 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

CSII を施行されている 1 型糖尿病患者の血糖コントロールに影響を与える因子について 利根淳仁、伊勢田泉、太田徹、林恭加、柴田祐助、真邊香江、藤原喜子、肥田和之 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

メタボリック症候群におけるアルブミン尿と炎症およびインスリン抵抗性についての検討 梶谷展生、四方賢一、石井啓太、平田教至、小寺亮、廣田大昌、和田淳、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

当院におけるシタグリプチンの使用経験 重松照伸、宮下雄博、岡田震一、藤井総一郎、早川信彦、岡崎守宏 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

高齢糖尿病患者におけるグリメピリドとシタグリプチン併用症例の検討 宮下雄博、早川信彦 第 55 回日本老年医学会学術集会 (大阪) 平成 25 年 6 月 4 日

⑳ 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

㉑ 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

㉒ 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

- ②4 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
- ②5 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
- ②6 ビルダグリプチンと速効型インスリン分泌促進薬の併用療法の有用性 木村友香、松岡孝、合田悟、和田美輝、中井志保、和田侑子、三小田亜希子、志伊真和、中島佑佳子、藤原大介、武川郷、鈴木貴博、高橋健二 第 51 回日本糖尿病学会中国四国地方会総会（岡山）平成 25 年 10 月 15 日
- ②7 非肥満 2 型糖尿病に対するインスリン治療選択指標 藤原大介、高橋健二、合田 悟、

和田美輝、木村友香、中井志保、和田侑子、三小田亜希子、志伊真和、中島佑佳子、武川郷、鈴木貴博、松岡 孝 第 51 回日本糖尿病学会中国四国地方会総会（岡山）平成 25 年 10 月 15 日

- ②8 短期入院で決定した肥満 2 型糖尿病に対するインスリン療法の分析 鈴木貴博、合田悟、和田美輝、中井志保、和田侑子、木村友香、三小田亜希子、志伊真和、中島佑佳子、藤原大介、武川 郷、松岡孝、高橋健二 第 51 回日本糖尿病学会中国四国地方会総会（岡山）平成 25 年 10 月 15 日
- ②9 高齢発症 1 型糖尿病患者の膵島関連抗体に関する分析 三小田亜希子、松岡孝、藤原大介、武川郷、鈴木貴博、高橋健二 第 25 回日本老年医学会中国地方会（岡山）平成 25 年 11 月 23 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