

今後の予定

松尾班・和田班合同研究成果発表会日
時:平成27年2月1日(日)
会場:学術総合センター(一橋記念講堂)

分科会 抄録

早期診断ならびに重症化防止のためのバイオマーカー開発

分担研究者名：

柴垣 有吾 聖マリアンナ医科大学

丸山 彰一 名古屋大学

安部 秀斉 徳島大学

協力研究者名：

森 潔 京都大学

山本 格 新潟大学

本班研究の目的である、糖尿病性腎症と腎硬化症の予後改善を目指すためには、バイオマーカー開発を行い、診療水準向上、重症化予防を行うことが重要である。本分科会では、バイオマーカー候補の開発および選択と、既知マーカーのパネル化による有用性を検証し、実用化にむけた基盤研究を行うために、全体研究および各個研究を進めてきた。

分科会の全体研究として、糖尿病性腎症および腎硬化症294例（聖マリアンナ医科大学244名と金沢大学50名）の尿検体を用いて、L-FABP、アルブミンおよびNAGをISO15189、CAPシステムの精度管理・品質保証体制が整っている施設にて集中測定した。その値の1ポイント及び経時的変化と患者の臨床情報（臨床転帰）との関連を解析し、以下の結果を得た。

1. 横断解析ではCKDにおいて尿中L-FABP、アルブミン、NAGが高値であった。CKDの原因別では、糖尿病性腎症でこれらの値は高値であった。しかし、これらのバイオマーカーと腎機能は相関しなかった。
2. 縦断解析では、複合エンドポイント（脳卒中、心筋梗塞、要手術のASO、透析導入、死亡）で見た予後は、L-FABP、尿中アルブミン、ANG高値群で有意に悪く、その診断能はROC解析にてL-FABPが最も優れていた。
3. バイオマーカーの経時的変化の検討では、正常値持続群で最も予後が良く、異常値持続群で最も予後が悪かった。尿L-FABPでのみ、値の変化が予後を予測した（悪化→予後悪化、改善→予後良好）。
4. しかし、本研究のサンプルは、尿L-FABPとeGFRが強い相関を示したため、尿L-FABPがeGFRを上回る予後予測性能を示すことは確認できなかった。

今後は、新たなサンプルを集積し、eGFRが同等な群での尿L-FABPの高低が、予後予測因子となりうるかの検証が必要であると考えられる。特に、腎機能が良好で、蛋白尿の少ないサンプルでの検討が重要であると考え

各個研究としては、糖尿病性腎症を鑑別するための代謝物バイオマーカーの探索（丸山彰一、名古屋大学）、糖尿病性腎症ならびに腎硬化症の診療水準向上と重症化防止にむけた調査・研究（安部秀斉、同、徳島大学）を進めている。

糖尿病性腎症を鑑別するための代謝物バイオマーカーの探索では、昨年度にキャピラリー電気泳動時間飛行型質量分析(CE-TOFMS)を用い、高精度で糖尿病性腎症を診断できる代謝物の候補を特定し、さらに複数の代謝物を組み合わせて、より診断精度の高いバイオマーカーセットを得た。本年度は、他の患者群を用い、これまでに得られた結果のバリデーションを行う予定である。さらに、新規腎予後予測バイオマーカーを探索する目的で、蓄尿検査を行った糖尿病患者 3283 名について解析をおこなった。その結果、eGFR 低下群 (Δ eGFR \geq 30%) 18 名と Control 群 (Δ eGFR $<$ 30%) 46 名を抽出した。今後、血清、尿を用いたメタボローム解析を実施する予定である。

糖尿病性腎症ならびに腎硬化症の診療水準向上と重症化防止にむけた調査・研究のため、腎生検で確定診断のついたCKD患者において尿中エクソゾームタンパクを抽出し、診断及び重症化に関連するpodocyte-derived exosomal transcriptional factors (PDETFs)を現在までに8分子同定し、各分子のannotationを進めてきた。これら分子のうちで、WT1 (Wilms tumor 1)、Tpbg (trophoblast glycoprotein)に関しては、国内特許の申請を終了し、さらにJST外国特許出願支援制度によって国際特許申請の準備中である。同時に、定量化のためのキットの作製段階にある。残りの分子についても、同様の検討・定量化を進めている。

早期診断ならびに重症化防止のためのバイオマーカー開発

(○木村→柴垣, 今井→丸山, 安部)

早期発見、予後推測、治療法選択、薬剤有効性、合併症予測、予防の観点から

平成
24
年度

血液、尿、腎組織とし、目標試料数はそれぞれ200例

1) 新規バイオマーカー開発の基盤研究

L-FABPの臨床的意義(柴垣, 聖マリアンナ医科大学)
 プロテオーム、メタボローム解析(今井, 名古屋大学)
 尿エクソソーム解析(安部, 徳島大学)

平成
25
年度

2) 既知マーカーパネル化での検証

レジストリーにて収集されている尿検体を用いて検証する

平成
26
年度

臨床応用に向けた検討

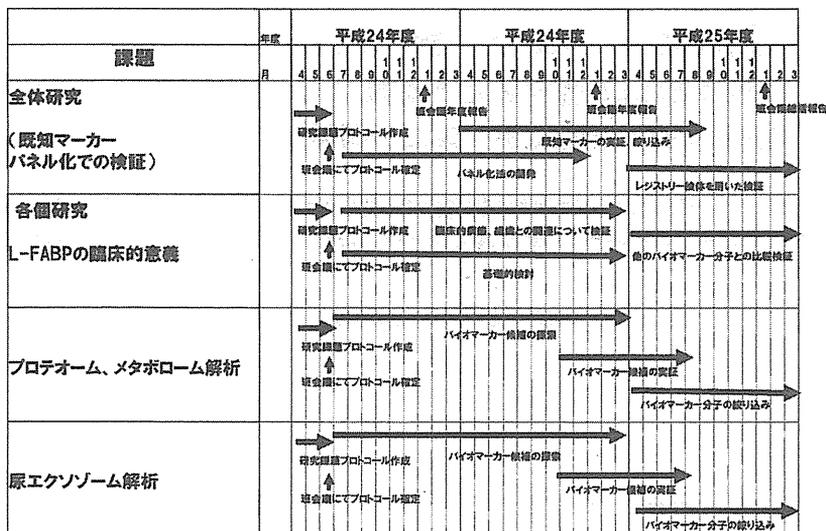
新規の臨床検査診断法として、特許申請、臨床応用への準備を目指す
 レジストリーにて収集されている尿検体を用いて検証する

最終目標

レジストリーで収集された尿検体を用いたバイオマーカーのvalidation
 腎生検例におけるバイオマーカーのvalidation

早期診断ならびに重症化防止のためのバイオマーカー開発

(○木村→柴垣, 今井→丸山, 安部)



分科会全体研究

糖尿病性腎症および高血圧にともなう腎硬化症における早期診断ならびに重症化防止のためのバイオマーカー開発(多施設共同研究)

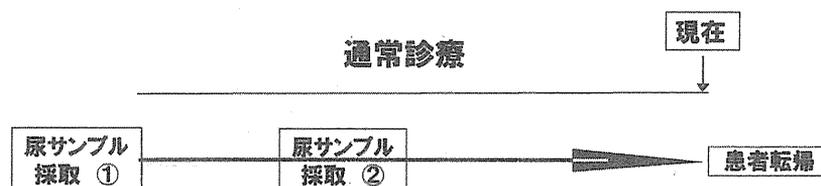
方法

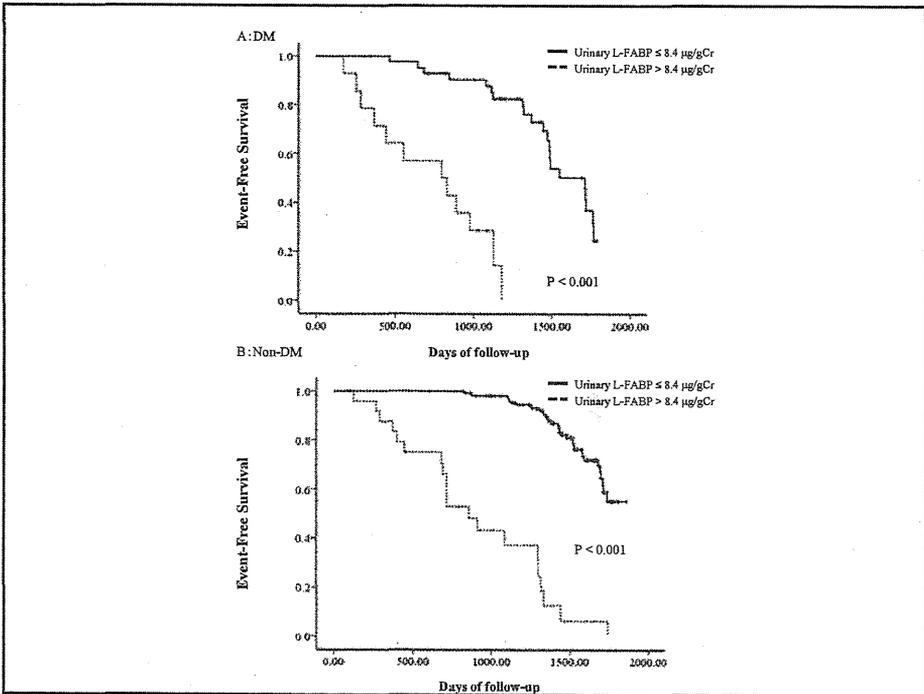
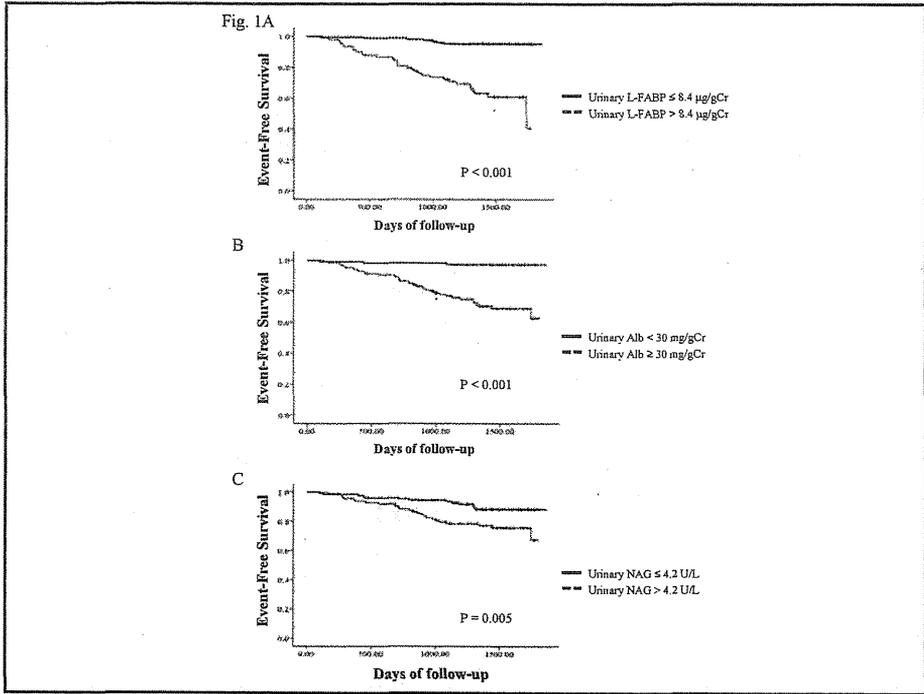
• 対象患者:244症例(聖マ大)

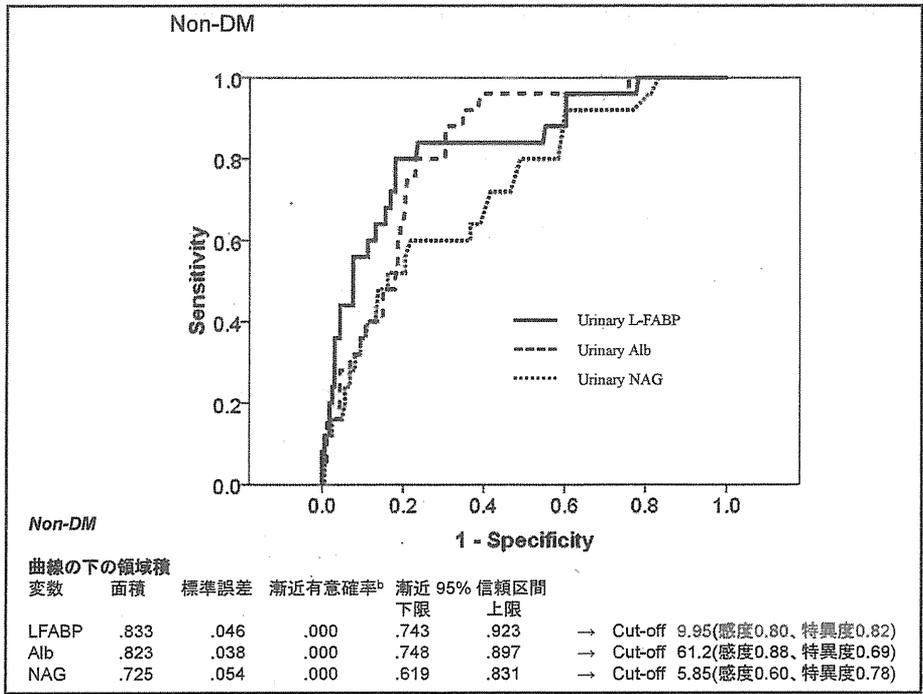
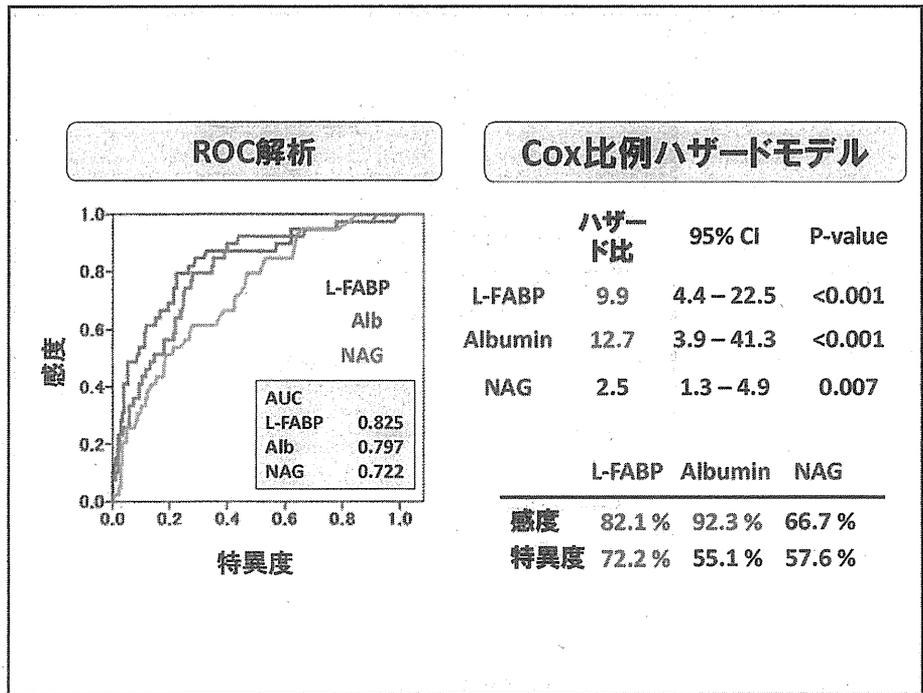
糖尿病性腎症および腎硬化症で通院していた外来患者で、すでに検体を保存し他の研究に用いることの同意を文書で得ている患者

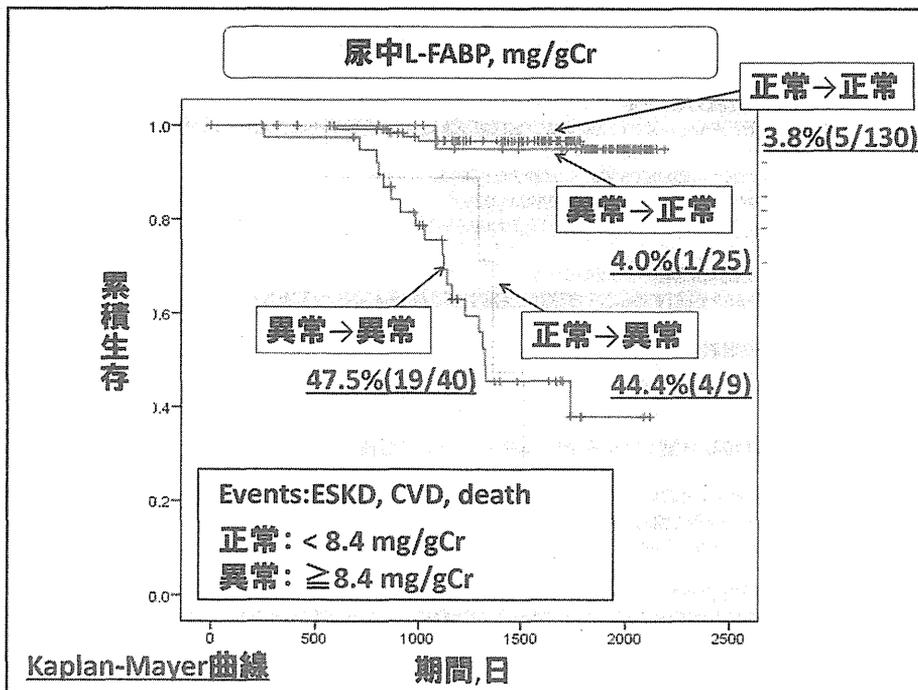
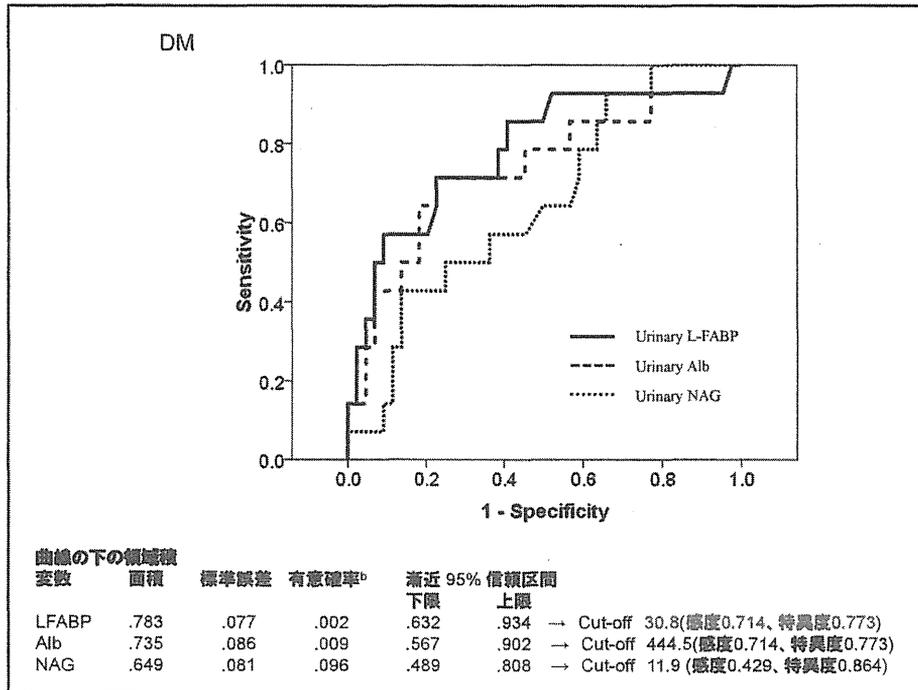
聖マリアンナ医科大学の生命倫理委員会で承認された臨床研究「慢性腎臓病における動脈硬化進行度の経時的観察研究」(本学承認番号:1156)に参加された被験者の尿および臨床情報

• 試験方法:Retrospective cohort study









今回の症例の尿L-FABP高低別のBaseline Characteristics

	All patients	low urinary L-FABP	high urinary L-FABP
Patients, n (%)	244	155 (63.5)	89 (36.5)
Median age (IQR) (yrs)	64.2 (19 - 86)	66.0 (53.0 - 72.0)	67.0 (59.0 - 76.5)
Sex (male/female)	146/98	89/66	57/32
SCr (mg/dl) (median, IQR)	0.98 (0.72 - 1.43)	0.86 (0.68 - 1.07)	1.60 (1.06 - 2.98)
eGFR (ml/分/1.73m ²) (median, IQR)	56.3 (35.7 - 71.5)	66.4 (50.2 - 75.1)	28.6 (16.1 - 51.9)
Diabetes, n (%)	58 (23.8)	25 (16.1)	33 (37.1)
DM patients only			
Patients, n (%)	58	25	33
Median age (IQR) (yrs)	66.0 (59.8 - 75.3)	65.0 (58.0 - 71.0)	67.0 (60.0 - 76.0)
Sex (male/female)	41/17	9/16	8/25
SCr (mg/dl) (median, IQR)	1.12 (0.87 - 2.01)	0.91 (0.69 - 1.21)	1.37 (0.99 - 2.90)
eGFR (ml/分/1.73m ²) (median, IQR)	49.8 (22.8 - 67.8)	63.3 (44.7 - 72.7)	38.8 (16.8 - 54.8)

eGFRに尿L-FABPを追加することで予後予測が改善するか？

1. AUCを用いた識別力の比較:

eGFR単変量モデルvs eGFR, FABPの2つを共変量に入れたモデル(ロジスティック回帰)

- A. eGFR = AUC 0.8588 (95%CI 0.7847-0.9329)
- B. log_FABP = AUC 0.8247 (0.7468-0.9026)
- C. eGFR, log_FABP = AUC 0.8622 (0.78660.9377)

A vs. CのROCの対比検定 P=0.8453

→ eGFRにFABPを追加することで有意に識別力に差が生じるとは言えない

2. 上記1.をDMの患者のみで

同じ結果

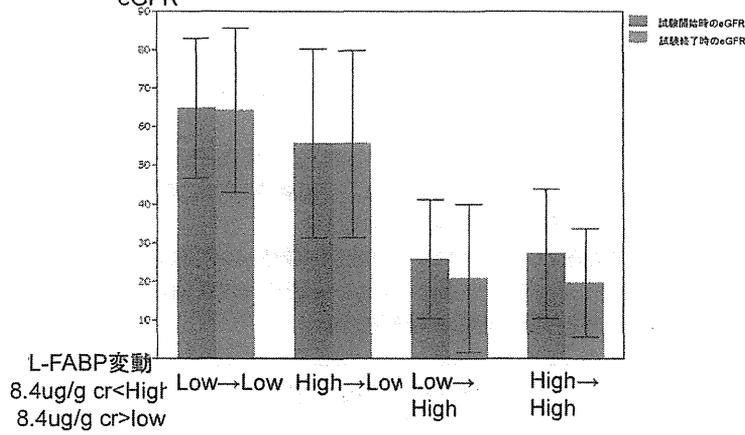
3. Clinical data(年齢、性別、DMの有無、eGFR)に、L-FABP追加

- A. Clinical data(eGFR除く)= AUC 0.6483 (95%CI 0.5496-0.7469)
- B. Clinical data(eGFR含む)= AUC 0.8638 (0.7945-0.9331)
- C. Clinical data+log_FABP = AUC 0.8728 (0.8038-0.9418)

B. vs. CのROC対比検定 P=0.5006

→ 現在の臨床診療で簡単に把握可能な患者背景に、FABPを追加することで、有意にアウトカム発生の識別力に差が生じるとは言えない

腎硬化症患者のみでの検討
eGFR



早期診断ならびに重症化防止のためのバイオマーカー開発

(○木村→柴垣, 今井→丸山, 安部)

課題	年度	平成24年度												平成25年度												平成26年度											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
全体研究 (早期診断ならびに重症化防止のためのバイオマーカー開発)	研究課題 プロトコル作成	→												→												→											
	研究会にて プロトコル確定	↑												↑												↑											
プロテオーム、メタボローム解析	研究会にて プロトコル確定	↑												↑												↑											
	研究会にて プロトコル確定	↑												↑												↑											
尿エクソソーム解析	研究会にて プロトコル確定	↑												↑												↑											
	研究会にて プロトコル確定	↑												↑												↑											

平成24・25年度の結果のまとめ

1. 聖マリアンナ医科大学244例、金沢大学50例のコホートを用いて、既存の尿バイオマーカーの測定値(1ポイント=24年度、経時的変化=25年度)と臨床情報との関連を解析した。
2. 横断解析ではCKDにおいて尿中L-FABP、アルブミン、NAGが高値であった。CKDの原因別では、糖尿病性腎症でこれらの値は高値であった。
3. これのバイオマーカーと腎機能は相関しなかった。
4. 縦断解析では、複合エンドポイント(脳卒中、心筋梗塞、要手術のASO、透析導入、死亡)で見た予後は、L-FABP、尿中アルブミン、ANG高値群で有意に悪く、その診断能はROC解析にてL-FABPが最も優れていた。
5. バイオマーカーの経時的変化の検討では、正常値が持続した例で最も予後が良く、異常値が持続した例で最も予後が悪かった。尿L-FABPでのみ、値の変化が予後を予測できた(悪化→予後悪化、改善→予後良好)。

平成26年度の結果

- ・ 今回のサンプル症例では、尿L-FABPとeGFRの相関が強く、尿L-FABPはeGFRと独立した予後予測因子とは言えなかった。

分科会各個研究

糖尿病性腎症を鑑別するための代謝物バイオマーカーの探索 名古屋大学医学部腎臓内科 丸山彰一

1. 研究の目的
糖尿病性腎症を早期に発見するための新規バイオマーカーの探索に取り組む。
2. 研究テーマ
①糖尿病性腎症の病態および病期を反映する新しい代謝物バイオマーカーの同定
糖尿病性腎症の病期(無発症、ミクロアルブミン尿期、マクロナルブミン尿期)ごとの患者における血中メタボロームプロファイルを明らかにして、糖尿病性腎症の病期を鑑別するための血中代謝物バイオマーカーを同定する。
②糖尿病性腎症進行予測マーカーの探索
名古屋大学関連病院の糖尿病患者の尿を検索し、5年の間に腎機能が低下(Δ eGFR $>$ 30%)した患者と変化しなかった患者に分けて、バイオマーカーとなる尿中代謝物質の検索と同定を行う。
3. スケジュール
研究テーマ①:1年目でバイオマーカーを探索し、3年目にvalidationを行う。
研究テーマ②:1, 2年目で対象検体の収集を行い、3年目でメタボローム解析を行う。

平成25年度までの結果のまとめ

1. 糖尿病性腎症のステージを鑑別に有用なバイオマーカー候補代謝物群(19物質)を同定した。それぞれ単独のAUCが概ね0.7以上であり、比較的良好な診断能を有していた。
2. 未知の物質を含む5個の代謝物を採用した際、糖尿病性腎症診断におけるROC曲線のAUCは0.927であった。また4種類の既知の代謝物(aspartic acid, SDMA, azelaic acid, galactaric acid)のみを採用した場合も0.844という高いAUCが得られた。

平成26年度の予定

1. 非糖尿病患者および他の糖尿病患者群を用いて、これまでに得られた結果を、バリデーションを行う。
2. 糖尿病患者の保存尿を収集し、腎機能が低下する患者に特異的な代謝物を同定する。

②糖尿病患者の腎予後判定代謝物の同定

患者選択法

2010.1月～2014.5月
蓄尿採血検査結果



24時間尿中アルブミン測定あるもの



eGFRが60～90のもの



eGFR低下群: Δ eGFR \geq 30%
Control群: eGFRが5回測定され Δ eGFR < 30%

延べ6686回
3283人



延べ5698回
2741人

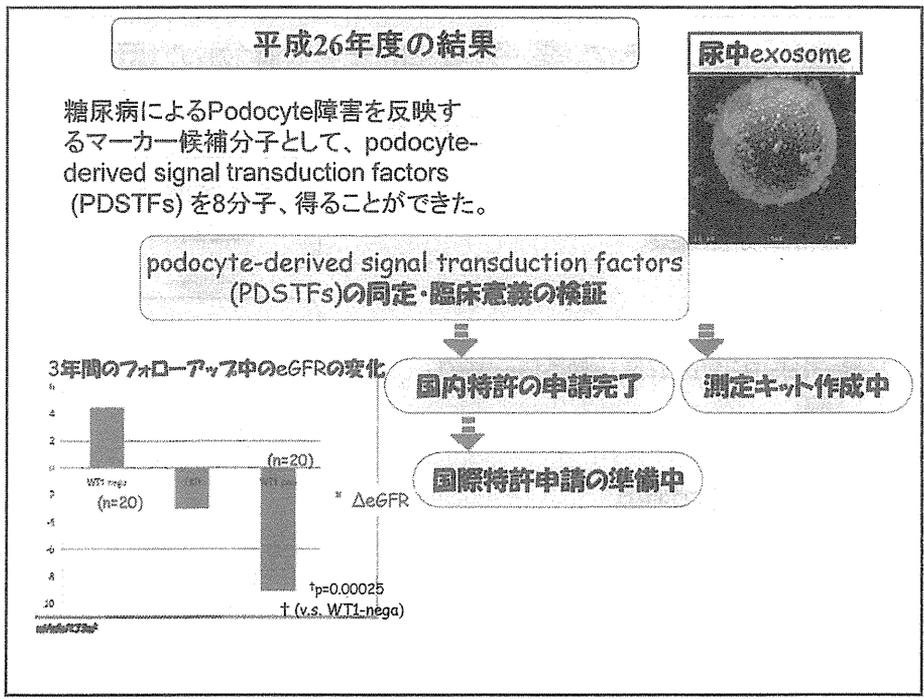
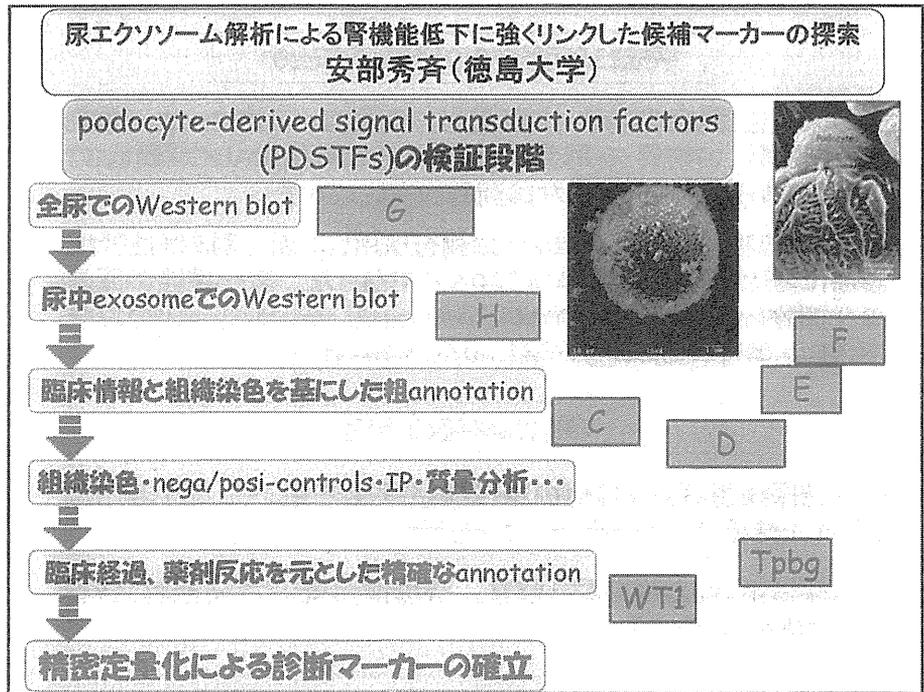


延べ2396回
911人



eGFR低下群
18人

Control
46人



事務連絡

本年度は、3年計画の最終年度になります。そこで

単年度の報告書に加えて、3年間のまとめの報告書の2種類が必要になります。
具体的な成果を盛り込んだ内容で報告書の作成をお願い致します。

具体的な日程および内容は以下の通りです。

	ご提出物	ご担当	締め切り
合同研究成果発表会 (平成27年2月1日)	抄録	分科会長 事務局	12月22日(月)
分担研究報告書 (平成26年度分)	研究報告書 刊行物一覧 論文別刷り	研究分担者・協力者 (※1)	1月9日(金)
総合研究報告書 (3年間のまとめ)	研究報告書		
経理報告書	経理書類 一式	研究分担者	3月31日(火)
倫理審査等報告書	報告書 一通		

1. 合同研究成果発表会

ご担当；分科会長（湯澤由紀夫先生・柴垣有吾先生）および 事務局
締め切り；平成26年12月22日（月）

内容：成果の概要と成果の詳細を、以下の記載事項に沿って
分科会ごとにまとめてください。

なお、資料のうち、知的財産権上、公表に問題のある箇所につきましたは、事前に削除戴いた資料を作成ください。

- 研究課題名
- 研究分担者・研究協力者(氏名・所属)
- 背景・目的
- 方法
- 結果
- 考察

1200字程度の文章で具体的に記載、重要な図表とその簡潔な解説文

2. 分担研究報告書（単年度）・総合研究報告書（3年間のまとめ）作成

※1 ご担当について

	ご担当
研究推進管理委員会	可能であれば皆様
病理分科会	湯澤 由紀夫先生 はじめ 可能であれば皆様
バイオマーカー分科会	柴垣有吾先生、丸山彰一先生、安部秀斉先生、木村健二郎先生、森潔先生、山本格先生
全体研究	事務局

詳細は、様式とともに追ってメールにてご依頼申し上げます。

締め切り；平成27年1月9日（金）

総合研究報告書（3年間のまとめ）につきましては、分科会長の先生方には既に「事後評価資料」として作成していただいておりますので、そちらに追記等をお願いいたします。

3. 経理報告書

対象； 研究分担者 全員

締め切り；平成27年3月31日（火） 郵送必着

4. 倫理審査および利益相反の管理に関する報告書

対象； 研究分担者 全員

締め切り；平成27年3月31日（火） 郵送必着

各ご所属の機関長により作成いただき、原本を事務局へご郵送ください。研究代表者がとりまとめのうえ、厚生労働省へ提出いたします。経理報告書・倫理審査報告書ともに、3月末までのご提出が難しい場合は、事務局までご一報ください。

その他のお願い

- 本研究費（の一部）により得られた研究成果の書籍刊行、雑誌への掲載、論文発表等については、本研究費補助金を受け実施した研究であることを（謝辞）を必ず明記してください。

This study was supported in part by a Grant-in-Aid for Diabetic Nephropathy and Nephrosclerosis Research, from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

本研究は厚生労働科学研究費補助金腎疾患対策研究事業「糖尿病性腎症ならびに腎硬化症の診療水準向上と重症化防止にむけた調査・研究」の支援を受けた。

分担者の先生方へ

- 研究分担金は必ず年度内に使用を終えてください。

協力者の先生方へ

- 研究協力者の研究費使用については、追ってご連絡申し上げます。

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患等実用化研究事業(腎疾患実用化研究事業)))
糖尿病性腎症ならびに腎硬化症の診療水準向上と重症化防止にむけた
調査・研究

平成 26 年度 診療水準向上に向けた重症度評価法の開発分科会
第 3 回ワーキンググループ会議

プログラム

日時：平成 27 年 2 月 1 日（日）10：00～12：00
場所：一橋記念講堂（学術総合センター）201 号室

研究代表者 和田 隆 志

事務局 〒920-8640 金沢市宝町 13 番 1 号
金沢大学医薬保健研究域医学系
血液情報統御学

TEL：076-265-2499 FAX：076-234-4273

E-mail：lab-med@med.kanazawa-u.ac.jp

厚生労働科学研究費補助金
糖尿病性腎症ならびに腎硬化症の診療水準向上と重症化防止にむけた調査・研究

平成 26 年度 診療水準向上に向けた重症度評価法の開発分科会
第 3 回ワーキンググループ会議 プログラム
平成 27 年 2 月 1 日 (日)

1. 挨拶

10:00~10:05

研究代表者 和田 隆志

10:05~10:10

分科会長 湯澤 由紀夫

2. 討議

I. 3年間総括・今後の展開について

10:10~10:30

古市 賢吾

II. ディスカッション

10:30~11:55

3. 事務連絡

今後の予定

11:55~12:00

平成 26 年度

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業（腎疾患対策研究事業）

「かかりつけ医/非腎臓専門医と腎臓専門医の協力を促進する慢性腎臓病患者の重症化予防のための診療システムの有用性を検討する研究」

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）

「難治性腎疾患に関する調査研究」

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等実用化研究事業（腎疾患実用化研究事業）

「糖尿病性腎症ならびに腎硬化症の診療水準向上と重症化防止にむけた調査・研究」

研究成果発表会議

平成 27 年 2 月 1 日（日曜日）

於 一橋記念講堂（学術総合センター）

平成 26 年度

厚生労働科学研究費補助金

腎疾患対策研究事業・難治性疾患等政策研究事業・難治性疾患等実用化研究事業

合同研究成果発表会

- 11:00~12:00 「戦略研究（腎疾患重症化予防のための戦略研究）」（FROM-J）
「かかりつけ医/非腎臓専門医と腎臓専門医の協力を促進する慢性腎臓病患者の重症化予防のための診療システムの有用性を検討する研究」研究成果発表
- 11:00~11:20 FROM-J/FROM-J2 5年間の追跡結果（プロトコル解析） 岡田昌史
11:20~11:40 FROM-J の経済評価結果の概要 近藤正英
11:40~12:00 FROM-J 研究の今後 山縣邦弘
- 13:00~16:05 「難治性腎疾患に関する調査研究」研究成果発表
- 13:00~13:05 班長挨拶 松尾清一
- 13:05~13:30 疾患登録・調査研究分科会 横山仁、渡辺毅、長田道夫
13:30~13:55 IgA 腎症ワーキンググループ 川村哲也、鈴木祐介
13:55~14:20 急速進行性糸球体腎炎ワーキンググループ 山縣邦弘、杉山齊
14:20~14:45 ネフローゼ症候群ワーキンググループ 丸山彰一、猪阪善隆
14:45~15:10 多発性嚢胞腎ワーキンググループ 武藤智、堀江重郎
15:10~15:35 Transition ワーキンググループ 服部元史、岩野正之
15:35~16:00 診療ガイドライン分科会
成田一衛、岡田浩一、本田雅敬、藤元昭一、要伸也、柴垣有吾、望月俊雄
- 16:00~16:05 総括 松尾清一
- 16:05~16:15 休憩
- 16:15~17:15 「糖尿病性腎症ならびに腎硬化症の診療水準向上と重症化防止にむけた調査・研究」研究成果発表
- 16:15~16:20 班長挨拶 和田隆志
16:20~16:35 糖尿病性腎症レジストリー 清水美保
16:35~16:55 診療水準向上にむけた重症度評価法の開発 湯澤由紀夫
16:55~17:15 早期診断ならびに重症化防止のためのバイオマーカー開発 柴垣有吾