

腎障害マーカーとしての尿中 THP 測定法の開発と尿中 THP 量と尿円柱出現様式 に関する検討

1. 臨床研究について

九州大学病院では、最適な治療を患者さんに提供するために、病気の特徴を研究し、診断法、治療法の改善に努めています。このような診断や治療の改善の試みを一般に「臨床研究」といいます。その一つとして、九州大学大学院 医学研究院 保健学部門 検査技術科学分野の臨床化学研究室では、現在、腎障害マーカーとしての尿中 Tamm-Horsfall Protein (THP)測定法の開発と尿中 THP 量と尿円柱出現様式に関する検討およびその臨床的意義について研究を行っています。

今回の研究の実施にあたっては、九州大学医系地区部局臨床研究倫理審査委員会の審査を経て、研究機関の長より許可を受けています。この研究が許可されている期間は、令和6年12月31日までです。

2. 研究の目的や意義について

現在、我が国における慢性腎臓病 (CKD) の患者数は実に 1,300 万人にのぼると推定され、その予備軍も含めると実に 2,000 万人にもなり、今後もこの数は増え続けると予想されています。また、腎臓病における最大の課題は、この病気の進行に伴い、最終的な段階では透析を余儀なくされることです。透析患者数は、毎年約 1 万人の増加傾向をたどっており、現在、約 30 万人にも達しています。このような透析患者数の増加は医療費の高騰を招き、わが国における医療保険制度を今以上に圧迫する要因の一つになると考えられているため、早い段階で腎症を発見しその病態を把握し治療をすることが重要です。

現在の CKD の病態ステージ分類基準の一つに、糸球体濾過量 (glomerular filtration rate: GFR) が臨床で用いられています。この GFR の測定にはイヌリンクリアランスを用いた方法が国際的な標準とされていますが、実測そのものが限られた環境を要すること、また住民検診レベルでは測定が困難であるなどの課題があります。そのため、我が国では年齢や血中クレアチニン値から計算式を用いて算出する推算 eGFR が主に用いられています。しかし、個々の体格差や、筋肉量により正確には算出することが困難な場合やクレアチニンが腎臓の尿細管からも排泄されることから、この GFR を過大評価しているとする報告もあります。正しく CKD の病態を把握するためにも、年齢や個体差により影響を受けない新たな腎機能評価マーカーの検索が早期に求められています。

このような現状の中、eGFR が低下した患者において、数ヶ月以内に尿中に多数の異常円柱が出現するという報告があります。円柱の主な基質成分は Tamm-Horsfall protein (THP)

と呼ばれるムコ蛋白であり、尿中蛋白成分の約50%を占めています。eGFRの低下に伴い出現する尿中円柱を観察することで早期に腎機能障害を見出す事が可能ですが、全ての尿検体に対して顕微鏡を見て観察することは多大な検査時間と労力を要することになります。

これまでの尿中THP測定は、臨床検査上、一般的には行われていません。また、測定法も酵素免疫学的な測定法が主流であり、試薬の価格が高いことや、一度に大量の検体を短時間で処理することは困難であるなど幾つもの課題がありました。しかし、近年、本研究室で新たに高速液体クロマトグラフィー法という方法を用いた尿中THPの簡便・迅速な定量法を考案しました。

そこで本研究の目的は、実試料である対象者尿検体を用いて、本法のバリデーション評価を行うと共に、尿中に多数出現する円柱に着目し、円柱の構成基質成分となる尿中THP量をモニタリングすることによって、円柱の出現様式やeGFRの低下時期を早期に予測することが可能かどうかについて検証することです。そして、新しい腎機能評価マーカーとして尿中THPを定量することの臨床的有用性を見出すことを期待しています。

3. 研究の対象者について

平成29年2月1日から平成29年2月22日までに九州大学病院外来において採取された尿のうち、検査終了後、九州大学病院検査部において保管されている尿検体300検体を対象とします。

4. 研究の方法について

具体的には、今回の検討対象である保管されている尿検体(3 mL)中のTHP濃度を測定し、尿中THP量と各検査値との間における関連性についての比較検討を行い、尿中THP定量における臨床的有用性の有無について探索・検証します。

尿のTHP濃度測定は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて行います。HPLCの分析前に塩析の原理を用いた前処理を行います。検体500 µLに対し、前処理用試薬(終濃度15%(v/v)飽和硫酸アンモニウム、72.5 mol/L塩化ナトリウム)を500 µLを添加し、室温で10分間振盪後、20,000 g、10分間遠心を行い、上清を除去し精製水1,000 µLで沈殿物を完全に溶解させたものをHPLC測定試料として、THP濃度を測定します。前処理の工程を図1に示します。

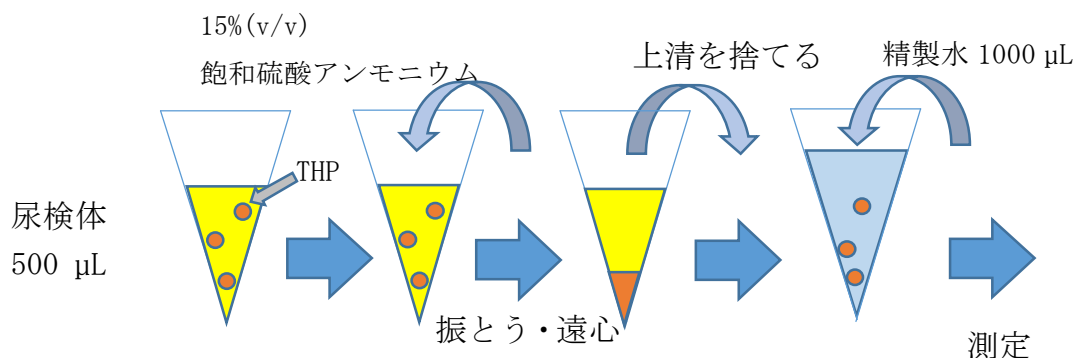


図1 塩析を利用した前処理の工程

また、この研究を行う際は、カルテより以下の情報を取得します。

〔取得する情報〕

年齢、性別、臨床情報

- ・尿定性試験項目（蛋白、糖、潜血、pH、尿比重、白血球、ビリルビン）
- ・尿沈渣情報（赤血球数、白血球数、各種上皮、各種円柱）
- ・血清 生化学検査データ
（総タンパク、アルブミン、グルコース、HbA1c、クレアチニン、尿素窒素（BUN）、尿酸（UA）、 γ -GT、AST、ALT、乳酸脱水素酵素（LD）、コリンエステラーゼ（ChE）、総ビリルビン（T-Bil）、アミラーゼ（AMY）、クレアチンキナーゼ（CK）、総コレステロール（T-Cho）、トリグリセライド（TG）、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、推算糸球体濾過率（eGFR）、クレアチニン・クリアランス、Ca, Mg, P、シスタチン C（CysC））
- ・尿 生化学検査データ
（総タンパク、アルブミン、グルコース、 β 2-MG、 α 1-MG、NAG、クレアチニン、Ca, Mg, P）

本研究では対象者を特定できる情報（ID や患者様氏名）を用いない連結不可能匿名化を行った後、検体を取り扱います。また、本研究には遺伝子研究は含まれておりません。得られた評価結果（情報）、実施過程およびその結果を学会や論文等において公表いたしません。いずれの場合においても、その資料中に対象者が特定されるような情報は一切含まれません。

5. 個人情報の取扱いについて

研究対象者の尿検査測定結果、カルテの情報をこの研究に使用する際には、容易に研究対象者が特定できる情報を削除して取り扱います。この研究の成果を発表したり、それを元に特許等の申請をしたりする場合にも、研究対象者が特定できる情報を使用することは

ありません。

この研究によって取得した情報は、九州大学大学院 医学研究院 保健学部門 検査技術科学分野・分野長水野 普一の責任の下、厳重な管理を行います。

6. 試料や情報の保管等について

〔試料について〕

この研究において得られた対象者の尿は、原則としてこの研究のために使用し、研究終了後は、九州大学大学院 医学研究院 保健学部門 検査技術科学分野において同分野・分野長の責任の下、5年間保存した後、医療廃棄物として適切に廃棄します。

〔情報について〕

この研究において得られた対象者のカルテの情報等は原則としてこの研究のために使用し、研究終了後は、九州大学大学院 医学研究院 保健学部門 検査技術科学分野において同分野・分野長の責任の下、10年間保存した後、復元できないように消去後に廃棄します。

また、この研究で得られた対象者の測定結果、カルテの情報等は、将来計画・実施される別の医学研究にとっても大変貴重なものとなる可能性があります。そこで、前述の研究期間を超えて保管し、将来新たに計画・実施される医学研究にも使用させていただきたいと考えています。その研究を行う場合には、改めてその研究計画を倫理審査委員会において審査し、承認された後に行います。

7. 利益相反について

九州大学では、よりよい医療を社会に提供するために積極的に臨床研究を推進しています。そのための資金は公的資金以外に、企業や財団からの寄付や契約でまかなわれることもあります。医学研究の発展のために企業等との連携は必要不可欠なものとなっており、国や大学も健全な産学連携を推奨しています。

一方で、産学連携を進めた場合、患者さんの利益と研究者や企業等の利益が相反（利益相反）しているのではないかという疑問が生じることがあります。そのような問題に対して九州大学では「九州大学利益相反マネジメント要項」及び「医系地区部局における臨床研究に係る利益相反マネジメント要項」を定めています。本研究はこれらの要項に基づいて実施されます。

本研究に関する必要な経費は、大学運営交付金において行われる研究であり、研究遂行にあたって特別な利益相反状態にはありません。

8. 研究に関する情報や個人情報の開示について

この研究に参加してくださった方々の個人情報の保護や、この研究の独創性の確保に支

障がない範囲で、この研究の研究計画書や研究の方法に関する資料をご覧いただくことができます。資料の閲覧を希望される方は、ご連絡ください。

また、ご本人等からの求めに応じて、保有する個人情報を開示します。情報の開示を希望される方は、ご連絡ください。

9. 研究の実施体制について

この研究は以下の体制で実施します。

| | |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 研究実施場所 (分野名等) | 九州大学病院キャンパス総合基礎 B 棟 131 共同実験室 (九州大学大学院 医学研究院 保健学部門 検査技術科学分野) 九州大学病院 検査部 |
| 研究責任者 | 九州大学大学院医学研究院 保健学部門 講師 外園 栄作 |
| 研究分担者 | 九州大学大学院 医学系学府 保健学研究科 大学院生 林 麟太郎 九州大学病院 検査部 部長 康 東天 九州大学病院 検査部 技師長 堀田 多恵子 九州大学病院 検査部 主任 酒本 美由紀 九州大学病院 検査部 秋本 卓 九州大学病院 検査部 川満 紀子 |

10. 相談窓口について

この研究に関してご質問や相談等ある場合は、事務局までご連絡ください。

| | |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 事務局 (相談窓口) | 担当者：九州大学大学院医学研究院 保健学部門 講師 外園 栄作 連絡先：〔TEL〕 092-642-6737 (内線 6737) 〔FAX〕 092-642-6737 メールアドレス：e_hoka@med.kyushu-u.ac.jp |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|