

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17394

研究課題名(和文)腎機能低下を早期に予測するメタボロミクス・バイオマーカーの解明と予防医療への展開

研究課題名(英文)Metabolomics biomarkers for predicting renal function decline

研究代表者

原田 成 (HARADA, Sei)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：10738090

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):60-74歳の一般市民1,672人に対し、調査開始時の腎機能測定(血清クレアチニン、血清シスタチンC、尿中アルブミン)と血漿・尿メタボローム測定を行った。また同じ参加者に対して、6年後も同様に評価した。機械学習的手法(OPLS-DA)を用いて、6年間での腎機能低下を予測した結果、古典的な腎機能指標に加えて、血漿・尿メタボロームを用いることで、より正確な予測モデルが構築できた。さらに別の機械学習的手法(SVM)を用いてROCカーブを作成したところ、3種類の代謝物を含む上位5つの変数を選択した場合にもっとも精度が高く、AUC 0.904(95%CI 0.871-0.944)と好成績であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病は、高齢および糖尿病が大きなリスク因子であることから、高齢社会の進展、また糖尿病の有病者の増加する現代の我が国においては、公衆衛生学上の重要な課題となっているが、近い将来の腎機能低下を予測することは困難なことも多い。

本研究では、既知のバイオマーカーに加えて、血漿メタボロームおよび尿中メタボロームを測定することで、将来の腎機能低下をより早く正確に捉えることができる可能性が示唆され、予防医療への応用可能性が示された。

研究成果の概要(英文):Renal function measurements (serum creatinine, serum cystatin C, and urine albumin) and plasma and urine metabolomics were performed on 1,672 participants aged 60-74 years at the beginning of the study. The same participants were also evaluated in the same way after 6 years. A machine learning method (OPLS-DA) was used to predict the decline in renal function over 6 years, and a more accurate prediction model was constructed by using plasma and urine metabolome in addition to classical renal function indicators. Furthermore, another machine-learning approach (SVM) was used to create ROC curves, which were most accurate when the top five variables including three metabolites were selected, with a good performance of AUC 0.904 (95%CI 0.871-0.944).

研究分野：メタボロミクス疫学

キーワード：腎機能低下 メタボローム 機械学習 予防医学 慢性腎臓病

## 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病は、高齢および糖尿病が大きなリスク因子であることから、高齢社会の進展、また糖尿病の有病者の増加する現代の我が国においては、公衆衛生学上の重要な課題となっている。特に病状が進展し人工透析が必要になった場合には、患者の QOL が著しく侵害されるほか、社会的・経済的インパクトも大きなものになる。

特に病状が進展して以降の治療・介入は困難であるため、早期の予防・予測・介入が求められる。腎機能の評価するバイオマーカーとして、現在血清クレアチニン、血清シスタチン C などが使用されており、尿中 L-FABP など新たなバイオマーカーも開発されているが、早期の腎機能障害を検出することや、近い将来の腎機能低下を予測することは困難なことも多い。

一方で、近年、生体内の代謝物を網羅的に測定する生体内メタボローム解析技術が急速に進展し、血液中の代謝物分布が腎機能と密接に関連することが報告されている。筆者らは、2012 年度より、11,002 名の一般地域住民による前向きコホート研究である「鶴岡メタボロームコホート研究」を立ち上げ、すべての血液・尿検体について、高精度かつ網羅的なメタボローム解析を実施する体制を築き、ベースラインの 11,002 検体の測定を完了した。従来のバイオマーカーに加えて測定済の生体内メタボロミクス・バイオマーカーを活用することで、より早期の腎障害の検出や、近い将来の腎機能低下予測を高精度に行うことができるのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、これまでの研究で蓄積してきた、一般地域住民の血漿および尿メタボローム・データを活用して、3 年間で腎機能低下を予測するモデルを構築することとした。これにより、既知のバイオマーカーにメタボロミクス・バイオマーカーを加えることで、一般地域住民においてどの程度高精度に早期腎機能障害や腎機能低下予測を行うことができるかを明らかにする。

これまで腎機能とメタボローム・データの関連について時間断面研究の報告はあるが、追跡データを使用した研究の報告はない。したがって本研究は、これまでのメタボローム・データを使用した知見の上に、経時的変化データを加えた解析を行うことで、予防医療への応用を目指した。

## 3. 研究の方法

(1) ベースライン時に 60 歳以上の対象者 1672 名を抽出、血清シスタチン C および尿中アルブミンを測定、ベースラインおよび 6 年後の腎機能を詳細に評価した。

研究対象集団の腎機能評価をより詳細かつ多面的に行うために、測定済の血清クレアチニンに加えて既知のバイオマーカーを測定した。血清シスタチン C は、年齢・体格に関係なく、クレアチニンより早期の腎機能低下の検出に優れる。尿中アルブミンは、糖尿病性腎症の評価に優れている。

鶴岡コホートの参加者 11,002 名は全員追跡調査がなされている。そのうち特に約 5,000 名の参加者はベースラインの 3 年後にも詳細な対面健診と採血が行われ、血清と尿が保存されている。この約 5,000 名からベースライン時に 60 歳以上の対象 1672 名を性別等で層化した上でランダムに抽出し、ベースライン時および 6 年後の血清シスタチン C と尿中アルブミンの測定を行った。測定にあたっては、大量の検体を安定した精度で測定可能な検査会社に委託した。

測定結果を用いて、血清クレアチニンにより推定された eGFR<sub>cre</sub>、血清シスタチン C により推定された eGFR<sub>cys</sub> がそれぞれ、6 年後の eGFR<sub>cre</sub>、eGFR<sub>cys</sub> の低下をどの程度予測可能かを、ロジスティック回帰モデルにより検討した。

(2) 6 年間の eGFR 低下を血漿・尿メタボロームにより予測するモデルを構築、腎機能低下メタボロミクス・バイオマーカー候補を明らかにした。

ベースライン時の血漿・尿メタボロームにより 6 年間の eGFR 低下を予測するモデルを構築した。血漿・尿メタボロームは合わせて約 200 種になることと、各々が独立した変数ではないことから、疫学研究で広く使用される一般線形回帰モデルやロジスティック回帰モデルでは適切にモデリングできない可能性が高い。そこで、本研究ではメタボロミクス疫学研究で頻用される O-PLS 回帰モデル、サポートベクターマシン(SVM)といった機械学習的手法を用いて、低下予測への寄与の大きな代謝物を腎機能低下バイオマーカー候補として探索した。特に、血清クレアチニン(eGFR<sub>cre</sub>)、血清シスタチン C(eGFR<sub>cys</sub>)、尿中アルブミンをメタボロームと同時に用いた腎機

能低下予測を作成し、メタボロームが既知のバイオマーカーと比べどの程度重要かを検討した。これにより、メタボロミクス・バイオマーカーによる腎機能低下の早期発見および予測における意義を明らかにした。

#### 4. 研究成果

本研究の解析対象者は男性 749 名、女性 923 名の 1672 名であった。年齢は 60-74 歳で、平均年齢は 65.4 歳 ± 3.6 歳であった。

血清クレアチニンをベースに算出した eGFRcre は、ベースライン時点で平均 73.8 ± 13.2、6 年後の値が平均 74.3 ± 15.4 と、ほぼ変わらなかった。

一方で血清シスタチン C を用いて算出した eGFRcys は、ベースライン時点で平均 86.2 ± 15.2、6 年後の値が平均 82.8 ± 14.8 と、約 3.4 低下した。

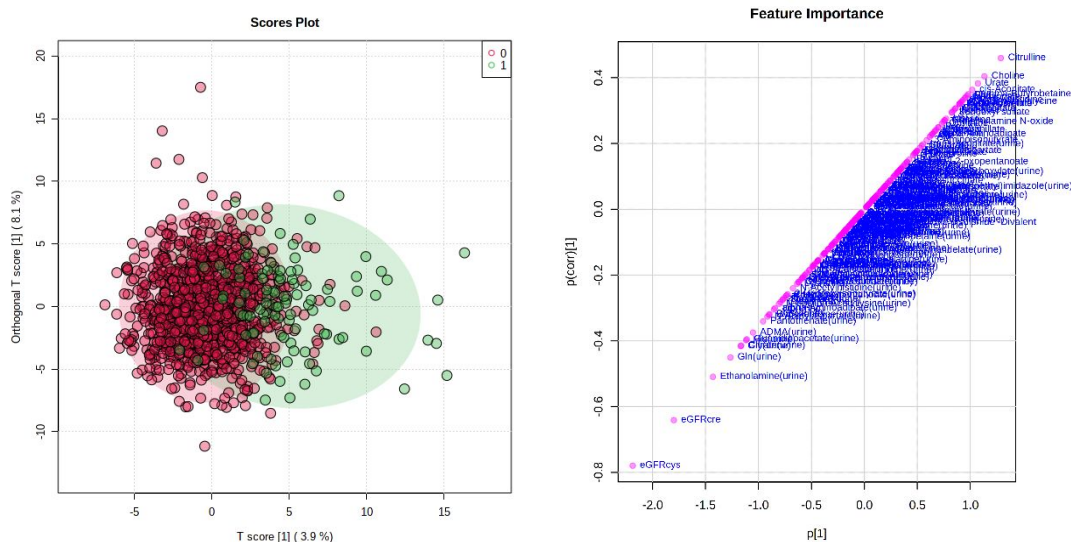
血清シスタチン C を用いて算出した eGFRcysの方が、血清クレアチニンをベースに算出した eGFRcre より高い傾向にあり、eGFR が 60 未満を腎不全と定義した場合、ベースライン時に eGFRcre では 12.1%なのに対して eGFRcys では 3.1%であった。6 年後はクレアチニンを使用した場合 14.8%が腎不全、シスタチン C を使用した場合には 7.7%が腎不全であった。

上記の結果から、血清クレアチニンは測定結果にややばらつきが大きく、血清クレアチニンを用いるよりも、シスタチン C を用いたほうが、6 年間の腎機能低下を正確にとらえていると考えられた。

ベースラインの値と 6 年後の腎不全との関連をロジスティック回帰分析により検討したところ、ベースラインのクレアチニン値が 1SD 高いと、腎不全の発症の OR は 1.37 であった。

一方、ベースラインのシスタチン C 値が 1SD 高いと、腎不全の発症の OR は 2.12 であった。このことから、血清シスタチン C は血清クレアチニンよりも、将来の腎不全の発症を正確に予測できると考えられた。

ベースラインの血漿・尿メタボロームと、ベースラインの eGFRcre、eGFRcys、尿中アルブミン/Cre 比を用いて、6 年後の CKD 発症を予測するモデルを OPLS-DA により構築した。なお、CKD 発症には 6 年後のシスタチン C の値を用いた。(下図)



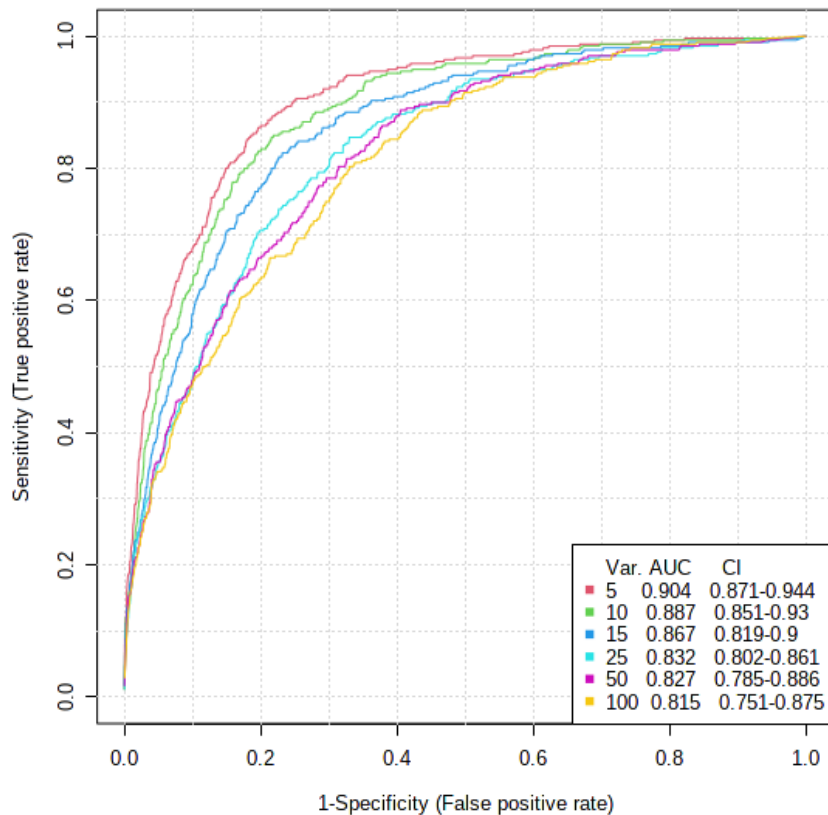
一定の精度で、CKD 発症（緑）と、未発症（赤）を分離することができた。

この予測に資する変数は、重要な順に、eGFRcys、eGFRcre、Ethanolamine(urine)、Citrulline(plasma)、Gln(urine)、Gly(urine)、Choline(plasma)、Citrate(urine)であった。ベースラインの腎機能に加えて、メタボロームを用いることでより詳細な予測が可能になったことが明らかになった。特に、上に挙げた代謝物類は、ベースラインの尿中アルブミン/Cre 比よりも強く予測に寄与していることから、有望なバイオマーカーであると考えられた。

また、血漿のメタボロームと尿のメタボロームがそれぞれ予測に寄与することから、血漿中の代謝物に加えて、尿中のメタボロームの代謝物を測定することで、腎機能低下をよりよく予測することができると考えられた。

さらに、SVM を用いて ROC カーブを作成したところ、6 年後の CKD 予測にもっとも寄与する変数として、eGFRcys は 1 番目、eGFRcre は 4 番目、尿中アルブミン/Cre 比の寄与は弱かった。このことから、クレアチニンや尿中アルブミン/Cre 比よりも、将来の CKD 発症予測に資する代謝物は複数あることが明らかになった。

また、ROC カーブ (下図) は上位 5 つの変数を選択した場合にもっとも精度が高く、AUC 0.904(95%CI 0.871-0.944)と好成績であった。



これらのことから、既知のバイオマーカーに加えて、血漿メタボロームおよび尿中メタボロームを測定することで、将来の腎機能低下をより早く正確に捉えることができる可能性が示唆され、予防医療への応用可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------