

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：32663
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2021～2023
課題番号：21K12736
研究課題名(和文) 微量アルブミン尿の早期発見を目的とした新しい蛋白質濃度測定手法の検討および確立

研究課題名(英文) Investigation and establishment of a new method of measuring protein concentration for early detection of trace albuminuria.

研究代表者
中嶋 和弘 (Nakashima, Kazuhiro)
東洋大学・理工学部・准教授

研究者番号：70315109
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：微量アルブミン尿検出のための新しい手法について検討し、アルブミンの吸着量と濃度の関係を明確にすることができた。この成果からアルブミン吸着を応用した検出方法が可能であり、妥当であることが明らかとなった。40歳未満の若年層の微量アルブミン尿について調査を行ったところ、4%の陽性率となった。対象者数が少ないため本研究の陽性率についてさらなる検討が必要であるが、他国の報告と比較しても妥当な陽性率であることから、若年層の微量アルブミン患者が存在することが明らかとなった。以上から、微量アルブミン尿の検査キットの必要性とその意義について明らかにすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病を発症する前段階の糖尿病予備群を早期発見し早期治療することで糖尿病および慢性腎疾患患者を少なくすることができると考えられる。そのために第一次健康診断等で簡単に微量アルブミン尿の検査ができる検査方法が必要である。

本課題ではこれまでの検査方法と異なる手法による微量アルブミン尿の検査方法について検討を行った。一連の研究により、微量アルブミン尿をこれまでよりも簡単な手法で検出できることを明らかにした。

本研究で調査した若年層の微量アルブミン尿陽性率は4.1%であった。このことから、若年層においても微量アルブミン尿陽性患者が存在することが明らかであり、糖尿病予備群の早期発見の重要性が示された。

研究成果の概要(英文)：A new method for the detection of trace albuminuria was investigated, and the relationship between the amount of albumin adsorbed and its concentration was clarified. The results of this study showed that a detection method based on albumin adsorption is feasible and valid.

The positive rate of trace albuminuria was 4% in a study of young adults under 40 years of age.

Although further investigation is needed because of the small number of subjects, the positive rate is reasonable compared with reports from other countries, indicating that there are patients with trace albumin in younger age groups.

The results of the present study indicate the necessity and significance of a test kit for microalbuminuria.

研究分野：バイオテクノロジー

キーワード：微量アルブミン尿 早期診断 慢性腎疾患 第一次健康診断 微量アルブミン尿陽性率 若年層

1. 研究開始当初の背景

本邦においては超高齢化社会の到来が目前に迫っており、医療費が国家予算に占める割合は年々増加している。特に透析にかかる医療費は、年間1兆6000億円にも上ると推計されており、総医療費の約4%を占める。少子高齢化が進む中で、透析患者が増え続ければ、社会保障の財政運営が一段と厳しくなることは明白である。この対策として厚生労働省は、2028年までに新規透析導入患者を35,000人以下に減少させるとの目標を掲げたが、2017年度の新規患者数は前年よりも1,600人増加した約41,000人であり、増加傾向が続いている。医療費が増額している疾病、疾患は多数あるが、本邦における透析患者に着目してみると、2017年度での透析患者数は33万人以上であり、総人口の0.2%に相当する。従って、透析患者の増加を防ぐことは、患者を救うことだけでなく、これからの日本社会の財政健全化という側面からも大きな効果が期待される。

慢性腎疾患による人工透析の患者は糖尿病から発症する症例が約45%と多いため、糖尿病を未然に予防することが、慢性腎疾患の予防へと繋がる。そのため、糖尿病の早期発見および早期治療が慢性腎疾患を予防する第一歩であると考えられる。つまり、血糖値が上昇する前に予備群を早期に診断することが課題となる。そのためには、発症前に微量アルブミン尿検査を行うことが望ましい。自治体や企業が行う健康診断(一次健康診断)では、一般的に微量アルブミン尿検査は行われていないことが、予備群の早期発見が少ない一因と考えられる。従って、微量アルブミン尿検査を一次健康診断等で行うことができれば、検査機会が増加し、糖尿病予備群の早期発見に繋がると考えられる。特に、20~30代の若年層では受診希望制度であるため、若年性の微量アルブミン尿に関する知見は得られていない。これらのことから、一次健診での検査を可能とするような検査・検出デバイスが必要であると考えられる。

本邦において40歳未満の若年層の微量アルブミン尿に関する報告は無く、将来的に糖尿病を発症する糖尿病予備群のみならず、心疾患系のイベント発症にも関与していることが指摘されていることから、若年層における微量アルブミン尿の陽性率を把握しておくことは重要である。これらの知見を明らかにすることで、糖尿病予備群の早期発見・早期治療の重要性ならびに、微量アルブミン尿検査が簡便に受診可能なデバイスや早期発見のための制度設計の重要性を明確にすることができる。

2. 研究の目的

1次健診で微量アルブミン尿の検査をするためには、簡便で短期間で測定できる検査キットが必要である。そのような検査キットを作製するためにはこれまでに行われている蛋白質濃度測定法では対応できない。そこで本研究課題ではこれまでと異なる原理を用いた新しい蛋白質濃度検出法についての検討が必要であることから、測定手法の検討を目的とした。

40歳未満の若年層の微量アルブミン尿陽性率についての報告はないため、将来的な慢性腎疾患患者の増加を抑制するためには若年層からの早期発見・早期治療が重要である。そのため、19歳から26歳までの若年層を対象とした微量アルブミン尿検査を行い、陽性率を調査し、若年層における微量アルブミン尿の検査の重要性について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

微量アルブミン尿検査法の検討

SPR (Surface Plasmon Resonance) 測定器を用い、金蒸着ガラス基板及び、同基板の表面をSAM (Self Assembled Monolayer) 膜で修飾することで表面特性を変化させた基板に対してアルブミンの吸着量と濃度の関係について測定を行った。SAM膜として、7-Carboxy-1-heptanethiol及び10-Amino-1-decanethiolを用いた。アルブミン吸着量の測定結果からそれぞれの基板における吸着量と濃度の関係を求め、微量アルブミン尿の測定手法について検討を行った。

若年層の微量アルブミン尿陽性率の検討

19歳から26歳までの被験者49名(男性33名、女性16名)に対し、任意の時間に採取された随時尿中の尿中アルブミン値及び尿中クレアチニン値をDCAバンテージを用いて測定した。尿中アルブミン値を尿中クレアチニンで除した尿中アルブミン・クレアチニン比が男性では200 mg/g Cr以上、女性では300 mg/g Cr以上を微量アルブミン尿陽性とした。

4. 研究成果

微量アルブミン尿検査法の検討

図1に各基板に対するアルブミンの濃度と吸着量を示す。図に示すように、それぞれの基板は吸着量と濃度の関係は増加傾向にあることが明らかとなった。また、それぞれの基板に対してアルブミンの吸着量と濃度の関係が異なることが明らかとなった。図中の蛋白質濃度の0.003~

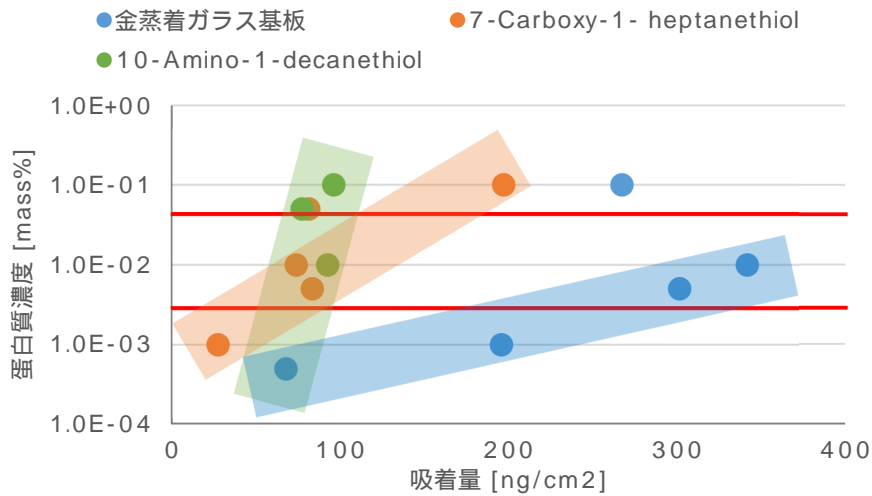


図1 アルブミンの吸着量と濃度の関係

0.500 mass%の蛋白質濃度は微量アルブミン尿の濃度範囲を示している。この濃度範囲において7-Carboxy-1-heptanethiol は吸着量が80~180ng/cm²を示し、微量アルブミン尿の濃度範囲において十分な検出感度を示した。また、金蒸着ガラス基板では微量アルブミン尿の濃度範囲では吸着量が他の表面よりも大きく、微量アルブミン尿未満の濃度においても十分な吸着量を示すことが明らかとなった。

以上から、各基板の吸着量から蛋白質濃度の推定が可能であることが明らかとなった。そのため、本研究課題で提案した吸着量を用いることで蛋白質濃度を推定する手法は有効であることが示された。

この結果から簡易的に微量アルブミン尿を診断するキットの開発が可能であることが示された。図2に示すようにそれぞれの基板に吸着した蛋白質を可視化し、それぞれの発色から尿中のアルブミン濃度を推定することができる。図2に例として示すように7-Carboxy-1-heptanethiol の発色から推定される蛋白質濃度が0.0020~0.015 ng/cm²、金蒸着基板の発色から推定される蛋白質濃度が0.001~0.011ng/cm²とすると、それらの濃度範囲が重複している0.0020~0.011 ng/cm²が尿中アルブミン濃度と推定される。

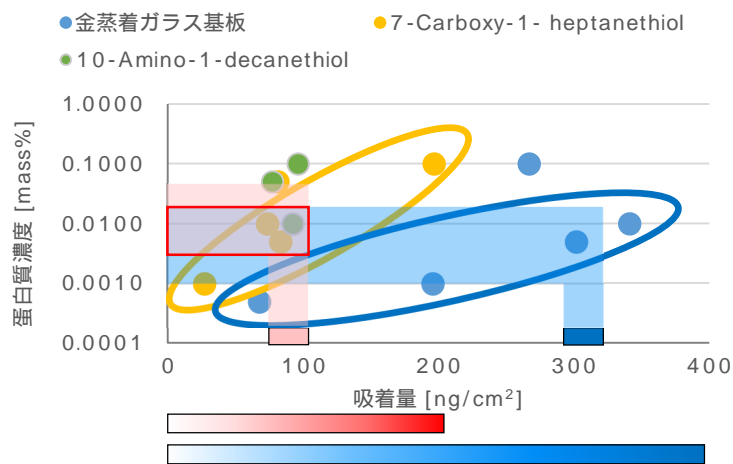


図2 尿中アルブミン濃度の推定の例

若年層の微量アルブミン尿陽性率の検討

表1に対象者の微量アルブミン尿陽性率(有病率)を示す。対象40名のうち、2名が陽性を呈し、全体では4.1%の陽性率であった。

表1 対象者の微量アルブミン尿陽性率(有病率)

対象者	陽性率	
男性	2/33 (6.1%)	全体 2/49 (4.1)
女性	0/156 (0.0%)	

表2に対象者全体の微量アルブミン尿測定値を示す。陽性者2名の微量アルブミン尿測定値はそれぞれ48.1mg/g Cr, 28.6mg/g Crで微量アルブミン尿の基準値を上回っていた。被験者1人に対して測定が1回の横断研究であったこと、被験者数が49名と極めて少数であったこと、被験者の身体的データを測定していないこと、詳細な既往を確認していないことが挙げられ、得られた結果については慎重に解釈にする必要がある。したがって、正確な有病率を確認するには被験者の数を増やして再検証する必要がある。

表2 対象者全体の微量アルブミン尿測定値 (mean ±S.D.)

対象者	UACR (mg/g Cr)	
男性	5.1 ± 2.6	(陽性者2名は含めず)
女性	6.1 ± 2.7	(陽性者なし)
陽性者2名	48.1 28.6	

以上のことから、一般住民の中には、極めて若い世代においても隠れ糖尿病が多数潜在している可能性が推測され、糖尿病の有無やひいては将来の慢性腎臓病や心血管病の発症予防に寄与するものであると考えられる。したがって、若年層に対する微量アルブミン尿の検査意義は大きく、若年層においても本検査を容易に受けることができるシステムや制度作りが重要であると考えられる。

ここまで示したように、若年層においても微量アルブミン陽性者が存在することから、若年層から微量アルブミン尿検査を受診することにより早期発見早期治療を行うことで、慢性腎疾患の要因となる糖尿病の発症を抑制することが期待される。微量アルブミン尿の検査は現在では精密検査となっているため、一次健診で受検することは難しい。本研究で検討した簡便な微量アルブミン尿検査法を用いることで、一次健診での受検を可能にすることが重要であることは明らかである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kazuhiro Nakashima
2. 発表標題 Measurement of The Adsorption Amount of Proteins on Au and Cr Surfaces
3. 学会等名 Biotribology Fukuoka 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤正広
2. 発表標題 若年層におけるマイクロアルブミン尿有病率の検討
3. 学会等名 第18回九州・沖縄臨床工学会
4. 発表年 2023年

〔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
研究分担者	佐藤 正広 (Sato Masahiro) (40736112)	帝京大学・公私立大学の部局等・教授 (32643)	

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
---------	---------