
原 著

2 型糖尿病患者 (腎症 1 期～3 期) における シタグリプチンの有用性についての観察研究

笹 川 泰 司

新潟大学大学院医歯学総合研究科

生体機能調節医学専攻腎・膠原病内科学分野

(指導：成田一衛教授)

Januvia Study on Renal Bio Markers and Blood Pressure (JUMP Study)

Taiji SASAGAWA

Division of Clinical Nephrology and Rheumatology

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

(Director: Professor. Ichiei NARITA)

要 旨

Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬は血糖改善作用だけでなく、それには依存しないアルブミン尿の減少などの腎臓保護効果をもたらす可能性が示唆されているが、腎近位尿管へ及ぼす影響も含めその詳細は未だに不明である。我々は以前から、近位尿管腔側に発現するメガリンに着目し、その尿中排泄量の測定法を開発するとともに、それらが糖尿病性腎症において腎障害を反映する新しいバイオマーカーとなり得るかを検討してきた。

今回、糖尿病性腎症 1～3 期の 2 型糖尿病患者 113 名に新規に DPP-4 阻害薬であるシタグリプチンを追加し、使用前後で血糖、血圧、腎機能、尿中 C-メガリンをはじめとした近位尿管関連の尿中バイオマーカーに及ぼす影響を前向きに調査するとともに、アルブミン尿の減少を予測する因子の検討を行った。

結果は、開始 12 か月で HbA1c および eGFR (推算糸球体濾過量) は有意に低下したが、尿中アルブミン/クレアチニン比 (ACR) には有意差がみられなかった。シタグリプチンによるアルブミン尿改善効果の要因を検討するため、12 か月後の尿中 ACR が 20% 以上減少していた群とそれ以外の群を 3 か月時点で比較したところ、12 か月後の尿中 ACR が 20% 以上減少する予測因子は、3 か月後の尿中 α_1 -ミクログロブリン/クレアチニン比 (α_1 -MG/Cr) の有意

Reprint requests to: Taiji SASAGAWA
Division of Clinical Nephrology and Rheumatology,
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences,
1-757 Asahimachi-dori Chuo-ku,
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒 951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科
生体機能調節医学専攻 腎・膠原病内科学分野
笹 川 泰 司

な減少であった。 α_1 -MGはメガリンのリガンドであるため、尿中 α_1 -MG/Crの減少は近位尿細管機能の改善ということだけでなく、メガリンの再吸収機能が回復したことを示唆している。さらに、尿中ACR、 α_1 -MG/Crが減少した群で尿中C-メガリン/Cr量が不変であったことから、メガリンのタンパク再吸収機能の回復が近位尿細管での代謝負荷には結びついていないことを示唆していると考えられた。

2型糖尿病症例において、シタグリプチン開始3か月後に尿中 α_1 -MG/Crが減少することは、血糖および血圧とは独立して、12か月後の尿中ACRの減少を予測する因子であった。今後、より詳細な検討を行い、DPP-4阻害薬による近位尿細管への影響に関連した腎保護効果を明らかにしていく予定である。

キーワード：シタグリプチン、メガリン、近位尿細管

緒 言

Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬は、インクレチンホルモン (GLP-1 と GIP) を分解する DPP-4 を阻害することで、それらホルモンの膵臓でのインスリン分泌促進やグルカゴン分泌抑制を増強させ、血糖降下作用を発揮すると考えられている¹⁾。DPP-4 の受容体は膵臓以外にも様々な臓器にも存在し²⁾、腎臓においても糸球体や尿細管に発現していると考えられており、GLP-1 受容体を介さない腎臓への作用も期待されている³⁾。実際 SAVOR-TIMI53 試験では、DPP-4 阻害薬内服群はプラセボ群に比較して血糖を低下させただけでなく、腎症ステージの改善率の増加、悪化率の低下を認めたと報告されている⁴⁾。Groop らの報告では、糖尿病性腎症 2 期～3 期の 2 型糖尿病患者に対し、DPP-4 阻害薬内服群とプラセボ群を比較したところ、DPP-4 阻害薬内服群で血糖の改善度とは関係なく、アルブミン尿が低下したとしている⁵⁾。また、DPP-4 阻害薬内服群と他の糖尿病治療薬で治療した群で、同程度に血糖コントロールをした本邦からの Mori らの報告でも、DPP-4 阻害薬内服群は、対照群に比べて有意にアルブミン尿の低下がみられたとされている⁶⁾。これらの研究から、DPP-4 阻害薬の使用で糖代謝改善に依存しない形でのアルブミン尿の減少といった腎保護効果の可能性が示唆されているが、その詳細は明らかではない。特に近位尿細管上皮細胞には DPP-4 や GLP-1 受容体が存在し、DPP-4 阻害薬の標的部位と考

えられる²⁾⁷⁾。しかし、近位尿細管での DPP-4 阻害薬の作用がアルブミン尿や近位尿細管マーカー、さらには糸球体過剰濾過にどのように関連しているかについても不明のままである。

私たちの研究グループでは以前から、近位尿細管エンドサイトーシス受容体メガリンに着目し、研究を行ってきた。メガリンは近位尿細管細胞の管腔側表面に発現し、糸球体で濾過される様々なタンパク質の再吸収・代謝に関わっている⁹⁾。そのリガンドには、アルブミンや、近位尿細管マーカーとして、現在臨床で使用されている α_1 -ミクログロブリン (α_1 -MG)、 β_2 -ミクログロブリン (β_2 -MG) などの低分子量タンパク質が含まれる。メガリンはリガンドタンパク質をエンドサイトーシスによって近位尿細管細胞内に取り込み、エンドソームからリソソームへ運搬する働きをした後、細胞膜表面にリサイクルされる。最近、私たちの研究グループでは、Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) による C-メガリン (全長型メガリン) の尿中排泄量の測定系を開発した。さらに、糖尿病性腎症の症例における検討において、尿中 C-メガリンがアルブミン尿出現以前から増加し、その病期の進展とともに有意に増加すること、また、eGFR が 60 ml/min/1.73m² 以下では eGFR と負の相関を示すことを報告した⁸⁾。しかし、薬剤による尿中メガリンの変化に関する検討はほとんど行われておらず、その詳細は不明である。

そこで今回、DPP-4 阻害薬が血糖、血圧、腎機能だけでなく、尿中 C-メガリンをはじめとし

た近位尿細管関連の尿中バイオマーカーに及ぼす影響を前向きに調査するとともに、アルブミン尿の減少を予測する因子の検討を行った。

対象と方法

新潟大学医歯学総合病院腎・膠原病内科およびその関連病院に通院中の20歳以上の2型糖尿病患者で、1) 4週以上食事療法・運動療法のみ、若しくは食事療法・運動療法と糖尿病治療薬での治療中にも関わらず、血糖コントロールが不十分な患者（HbA1c 6.5 % 以上、あるいは空腹時血糖 130 mg/dL 以上、あるいは随時血糖 180 mg/dL 以上）、2) 糖尿病性腎症病期分類の第1期（腎症前期）から第3期（顕性蛋白尿期）の患者、3) 最低6か月は原則として降圧薬を含む併用薬の変更が必要ないと判断される患者、4) データ使用に対する文書同意が得られた20歳以上の外来患者（性別不問）を対象とした。除外基準は1) 1型糖尿病、2) 重症感染症、手術前後、重篤な外傷のある患者、3) 妊婦又は妊娠している可能性のある婦人及び授乳中の患者、4) 重篤な腎機能障害（血清クレアチニン 2.5 mg/dl 以上）を有する患者、5) シタグリプチンに対して過敏症の既往歴のある患者、6) 主治医が医学的根拠から研究参画に不適切と判断した患者とした。すべての患者に対して、ヘルシンキ宣言に基づくインフォームドコンセントを行い、書面にて同意を取得した。本研究は、新潟大学における人を対象とする研究等倫理審査委員会の承認を取得後、大学病院医療情報ネットワーク（UMIN）のUMIN臨床試験登録システムに登録を行った（UMIN試験ID：UMIN000007477）。試験デザインは、非対照・非盲検・探索的臨床試験とした。同意取得後シタグリプチン 50mg を開始し、12か月間観察を行った。糖尿病以外の治療薬（降圧剤、抗血小板薬、脂質異常症治療薬）については原則用量を変更せず継続とした。中等度の腎機能低下がある患者（男性で $1.5 < \text{血清 Cr} \leq 2.5 \text{ mg/dL}$ 、女性で $1.3 < \text{血清 Cr} \leq 2.0 \text{ mg/dL}$ ）は、シタグリプチン 25mg から開始し、3か月後に効果をみながら 50mg ま

で増量した。HbA1c が 6.9 % 以下にならない場合はシタグリプチンを最大 100mg まで増量としたが、中等度腎機能低下患者は用量変更を行わないこととした。また、過度に血糖が低下した場合は、主治医の判断でシタグリプチンの減量、もしくは他の糖尿病治療薬併用中の場合は併用薬を減量または中止した。内服開始時と開始3か月および12か月後に血圧、BMI（Body mass index）、診察室血圧、HbA1c、クレアチニンから算出される eGFR、尿中アルブミン、尿中 α_1 -MG、尿中 β_2 -MG、尿中 β -D-N アセチルグルコサミニダーゼ（NAG）、尿中 C-メガリンの測定を行った。主要評価項目は治療開始時と12か月後における HbA1c の変化量とし、副次評価項目は、診察室血圧、BMI、eGFR、尿中アルブミン/クレアチニン比（ACR）、尿中 α_1 -MG/クレアチニン比（ α_1 -MG/Cr）、尿中 β_2 -MG/クレアチニン比（ β_2 -MG/Cr）、尿中 NAG/クレアチニン比（NAG/Cr）、尿中 C-メガリン/クレアチニン比（C-meg/Cr）、尿中ナトリウム排泄率（FENa）の治療開始時と12か月後における変化量とした。また探索的研究として、12か月後の尿中 ACR が 20% 以上減少していた群と、尿中 ACR が 20% 以上減少しなかった群に層別し、3か月時点での評価項目が12か月後の尿中 ACR に与える影響を検討した。採血は来院時採血とし、HbA1c、クレアチニンは各通院施設の検査結果を使用した。尿中ナトリウム、尿中クレアチニン、尿中アルブミン、尿中 α_1 -MG、尿中 β_2 -MG、尿中 NAG は SRL に測定を依頼した。尿中 C-メガリンは、デンカイノベーションセンターにて以前に報告した方法で測定した⁸⁾。結果は平均 ± 標準誤差、あるいは中央値（四分位範囲（interquartile range, IQR））のいずれか適当な方で表記した。検定は paired t-test、Wilcoxon signed rank test のいずれか適当な方を用いた。さらに、各項目の0か月から3か月の変化量（ $\Delta 3M = 3M - 0M$ ）を独立変数とし、12か月後の尿中 ACR の 20% の減少が生じるか否かを説明変数とする、単変量ロジスティック回帰分析をおこなった。単変量ロジスティック回帰分析で $P < 0.1$ となる項目に加え、年齢、

性別，0 か月の BMI と HbA1c を独立変数とし，12 か月後の尿中 ACR の 20% の減少が生じるかを説明変数とする多変量ロジスティック回帰分析をおこなった．有意水準は $P < 0.05$ にて有意差ありとした．

結 果

投与開始前の患者背景は，患者 113 名（男性 59 名），年齢 65.6 ± 10.5 歳，糖尿病罹患期間平均 126.4 か月であった．正常アルブミン尿患者が 76 名（67%），微量アルブミンの状態が 22 名（20%），顕性アルブミン尿が 15 名（13%）であった．DPP-

表 1 開始時患者背景

糖尿病患者数(人)	113(男性 59)
年齢(歳)	65.6±10.5
糖尿病罹患期間(月)	126.4±81.0
糖尿病性腎症 病期(人数)	
正常アルブミン尿	76
微量アルブミン尿	22
顕性アルブミン尿	15
他の糖尿病治療薬使用者(人数)	
スルホニル尿素薬	33
ビグアナイド薬	33
チアゾリジン薬	26
α-グルコシダーゼ阻害薬	53
グリニド薬	16
インスリン	4
RAS 阻害薬 使用者(人数)	71

値は平均 ± 標準誤差

表 2 開始時と開始 12 ヶ月後の検査データ (n=113)

	0M	12M	Δ12M	P
BMI (kg/m ²)	25.8±4.8	25.5±4.6	-0.2±1.1	0.055
収縮期血圧 (mmHg)	128.2±13.8	127.8±13.8	-0.4±15.4	0.75
拡張期血圧 (mmHg)	73.5±10.5	73.0±10.7	-0.5±9.7	0.50
HbA1c (%)	7.3±1.0	6.9±0.9	-0.4±0.7	<0.001
eGFR (mL/min per 1.73 m ²)	70.8(56.7, 82.0)	67.3(57.0, 79.7)	-2.8(-7.1, 1.4)	<0.001
ACR (mg/gCr)	11.8(6.3, 59.6)	15.9(7.1, 68.6)	0.9(-3.5, 8.8)	0.21
C-meg/Cre (pmol/gCr)	0.36(0.15, 0.69)	0.52(0.28, 0.89)	0.13(-0.16, 0.41)	0.002
α ₁ -MG/Cre (mg/gCr)	6.88(3.16, 14.08)	6.96(3.38, 13.88)	0.37(-2.27, 2.70)	0.49
β ₂ -MG/Cre (μg/gCr)	136.3(61.9, 393.2)	129.9(58.2, 313.2)	6.6(-76.6, 104.6)	0.34
NAG/Cre (IU/gCr)	5.71(3.89, 10.38)	5.69(3.95, 10.76)	0.45(-1.65, 3.12)	0.17
FENa (%)	0.92(0.65, 1.32)	0.92(0.57, 1.32)	0.00(-0.41, 0.30)	0.61

データは平均 ± 標準誤差，もしくは中央値（四分位範囲），Δ12M=12M-0M

4 阻害薬以外の糖尿病治療薬はSU 剤が 33 名、
 ビグアナイドが 33 名、チアゾリジン系 26 名、 α グル
 コシダーゼ阻害薬 53 名、グリニド薬 16 名、インス
 リン使用者は 4 名で、RAS 阻害薬は 71 名で使用
 されていた（表1）。

主要評価項目である治療開始時と 12 か月後にお
 ける HbA1c の変化量は、 $7.3 \pm 1.0\%$ から $6.9 \pm$
 0.9% と有意に低下していた ($P < 0.001$)。副次評
 価項目では、開始から 12 か月で BMI は $25.8 \pm$
 4.8 kg/m^2 から $25.5 \pm 4.6 \text{ kg/m}^2$ と低下傾向を示し
 たが ($P = 0.056$)、収縮期血圧は 128.2 ± 13.8
 mmHg から $127.8 \pm 13.8 \text{ mmHg}$ ($P = 0.75$)、拡張
 期血圧は $73.5 \pm 10.5 \text{ mmHg}$ から $73.0 \pm 10.7 \text{ mmHg}$
 ($P = 0.50$) と変化を認めなかった。eGFR は 12
 か月で $70.8 (56.7, 82.0) \text{ ml/min/1.73m}^2$ から 67.3
 ($57.0, 79.7$) ml/min/1.73m^2 と有意に低下したが
 ($P < 0.001$) が、尿中 ACR は $11.8 (6.3, 59.6)$
 $\text{mg/g} \cdot \text{Cr}$ から $15.9 (7.1, 68.6) \text{ mg/g} \cdot \text{Cr}$ と増加
 傾向ではあるものの、有意差は認められなかった
 ($P = 0.21$)。尿中 C-meg/Cr は開始時 0.36
 ($0.15, 0.69$) $\text{pmol/g} \cdot \text{Cr}$ から 12 か月後 0.52
 ($0.28, 0.89$) $\text{pmol/g} \cdot \text{Cr}$ と有意に増加がみられ
 たが ($P = 0.002$)、尿中 α_1 -MG は $6.88 (3.16,$
 $14.08) \text{ mg/g} \cdot \text{Cr}$ から $6.96 (3.38, 13.88) \text{ mg/}$
 $\text{g} \cdot \text{Cr}$ ($P = 0.50$)、尿中 β_2 -MG は $136.3 (61.9,$
 $393.2) \text{ mg/g} \cdot \text{Cr}$ から $129.9 (58.2, 313.2) \text{ mg/g} \cdot$
 Cr ($P = 0.34$)、尿中 NAG も $5.71 (3.89, 10.38)$
 $\text{IU/g} \cdot \text{Cr}$ から $5.69 (3.95, 10.76) \text{ IU/g} \cdot \text{Cr}$ ($P =$
 0.17)、FENa も $0.92 (0.65, 1.32) \%$ から 0.92
 ($0.57, 1.32) \%$ ($P = 0.61$) といずれも有意な変化
 は認められなかった（表2）。

シタグリプチンによる尿中 ACR の減少効果の早
 期の要因を検討するため、12 か月後の尿中 ACR
 が 20% 以上減少していた群と、尿中 ACR が 20%
 以上減少しなかった群との 2 群に分けて、各検査
 項目の 0 か月から 3 か月後での前後変化について層
 別解析を行った。尿中 ACR が 20% 以上減少した
 群では、開始後 3 か月で HbA1c は $7.3 \pm 1.0 \%$ から
 $6.8 \pm 0.8 \%$ ($P < 0.001$)、eGFR が 76.5 ml/
 min/1.73m^2 から $72.4 \text{ ml/min/1.73m}^2$ ($P = 0.016$)
 に低下した。また、尿中 α_1 -MG/Cr が $11.4 (5.0,$

表3 12 か月後の尿中 ACR が 20% 以上減少し
 た群とその他の群との比較

	12MのACRが20%以上減少していた群 (n=35)				12MのACRが20%以上減少していなかった群 (n=78)				群間比較	
	0M	3M	$\Delta 3M$	P	0M	3M	$\Delta 3M$	P	0M	$\Delta 3M$
年齢 (歳)	65.3 ± 11.6				65.7 ± 10.1					
糖尿病罹患期間 (月)	118.7 ± 72.1				129.9 ± 85.4					
BMI (kg/m^2)	26.0 ± 4.2	25.9 ± 4.3	-0.1 ± 0.7	0.53	25.7 ± 5.1	25.5 ± 5.0	-0.2 ± 0.7	0.049	0.77	0.52
収縮期血圧 (mmHg)	129.3 ± 13.5	125.8 ± 13.6	-3.5 ± 12.2	0.10	127.7 ± 14.0	126.9 ± 13.8	-0.9 ± 12.2	0.71	0.58	0.29
拡張期血圧 (mmHg)	74.4 ± 11.5	71.9 ± 8.9	-2.5 ± 10.1	0.15	73.2 ± 10.1	71.7 ± 10.4	-1.4 ± 8.3	0.95	0.58	0.56
HbA1c (%)	7.3 ± 1.3	6.8 ± 0.8	-0.5 ± 0.7	<0.001	7.3 ± 0.8	6.8 ± 0.8	-0.6 ± 0.7	<0.001	0.62	0.88
eGFR (ml/min/1.73 m^2)	$76.5 (63.2, 87.3)$	$72.4 (56.4, 85.8)$	$-3.3 (-7.1, 1.9)$	0.016	$68.3 (53.2, 80.4)$	$67.2 (54.5, 77.3)$	$-0.2 (-4.5, 2.6)$	0.34	0.059	0.055
ACR (mg/gCr)	$29.4 (10, 184.1)$	$20.4 (6.5, 68.6)$	$-10.1 (-83.9, 0.1)$	0.001	$95.3 (32.1, 109.9)$	$10.9 (5.8, 28.8)$	$0.5 (-2.5, 4)$	0.55	0.002	<0.001
C-meg/Cr (pmol/gCr)	$0.4 (0.2, 0.7)$	$0.5 (0.1, 0.8)$	$0 (-0.2, 0.2)$	0.84	$0.4 (0.1, 0.7)$	$0.4 (0.2, 0.8)$	$0 (-0.2, 0.3)$	0.078	0.66	0.33
α_1 -MG/Cr (mg/gCr)	$11.4 (5.0, 15.9)$	$7.0 (3.5, 12.3)$	$-2.5 (-6, 0.8)$	0.006	$5.8 (2.8, 13.3)$	$6.7 (3.4, 12.5)$	$0.1 (-2.2, 2.6)$	0.72	0.013	0.004
β_2 -MG/Cr ($\mu\text{g/gCr}$)	$141 (75, 420)$	$91 (48, 182)$	$-44 (-179, -1)$	0.011	$119 (59, 376)$	$138 (63, 485)$	$-3 (-37, 85)$	0.78	0.44	0.015
NAG/Cr (IU/gCr)	$6.4 (4.3, 13.3)$	$5.7 (3.7, 10.4)$	$-0.4 (-2.5, 3.4)$	0.87	$5.7 (3.7, 9.7)$	$5.9 (4.4, 9.5)$	$0.9 (-0.8, 2.6)$	0.017	0.20	0.10
FENa (%)	$0.9 (0.7, 1.3)$	$0.9 (0.5, 1.1)$	$-0.2 (-0.5, 0.3)$	0.23	$0.9 (0.6, 1.3)$	$1 (0.6, 1.3)$	$0.0 (-0.3, 0.5)$	0.27	0.41	0.16












データは平均 \pm 標準偏差, もしくは中央値 (四分位範囲), $\Delta 3M=3M-0M$

15.9) mg/g・Cr から 7.0 (3.5, 12.3) mg/g・Cr ($P = 0.006$) に、尿中 β_2 -MG/Cr が 141 (75, 420) mg/g・Cr から 91 (48, 182) mg/g・Cr ($P = 0.011$) と有意に低下していた。一方、尿中 ACR が 20% 以上減少しなかった群でも、開始 3 か月で HbA1c は $7.3 \pm 0.8\%$ から $6.8 \pm 0.8\%$ に低下していたが ($P < 0.001$)、eGFR は 68.3 ml/min/1.73m² から 67.2 ml/min/1.73m² ($P = 0.346$)、尿中 α_1 -MG/Cr が 5.8 (2.8, 13.3) mg/g・Cr から 6.7 (3.4, 12.50) mg/g・Cr ($P = 0.001$)、尿中 β_2 -MG/Cr が 119 (59, 376) mg/g・Cr から 138 (63, 485) mg/g・Cr ($P = 0.786$)

と有意な変化は認められなかった。尿中 ACR が 20% 以上減少した群としなかった群とで 0 か月から 3 か月の変化量 ($\Delta 3M$) に変化が認められた因子は、尿中 α_1 -MG/Cr ($P = 0.004$) と尿中 β_2 -MG/Cr ($P = 0.015$) の 2 項目であった。








さらに、各検査項目 $\Delta 3M$ を独立変数とし、12 か月後の尿中 ACR の 20% の減少が生じるか否かを説明変数とする、単変量ロジスティック回帰分析をおこなったところ、シタグリブチン開始 3 か月後の eGFR、尿中 α_1 -MG/Cr の変化量と有意な関連性を認めた (表 4)。さらに、単変量ロジ

表 4 単変量ロジスティック回帰分析による 12 か月後の尿中 ACR の 20% 減少に関連する $\Delta 3M$ の変数

独立変数($\Delta 3M$)	オッズ比	オッズ比(95%信頼区間)	P
BMI (kg/m ²)		1.22 (0.67 - 2.24)	0.51
収縮期血圧 (mmHg)		0.98 (0.95 - 1.02)	0.29
拡張期血圧 (mmHg)		0.99 (0.94 - 1.03)	0.55
HbA1c (%)		1.04 (0.58 - 1.87)	0.88
eGFR (mL/min per 1.73 m ²)		0.94 (0.88 - 1.00)	0.059 *
ACR (mg/gCr)		1.00 (0.99 - 1.00)	0.33
C-meg/Cre (pmol/gCr)		0.97 (0.68 - 1.40)	0.87
α_1 MG/Cre (mg/gCr)		0.90 (0.82 - 0.98)	0.011 **
β_2 MG/Cre (μ g/gCr)		1.00 (1.00 - 1.00)	0.16
NAG/Cre (IU/gCr)		0.96 (0.90 - 1.03)	0.29
FENa (%)		0.99 (0.99 - 1.00)	0.076 *
	0.1 1.0 10		

* : $P < 0.1$, ** : $P < 0.05$

表 5 多変量ロジスティック回帰分析による 12 か月後の尿中 ACR の 20% 減少に関連する予測因子

独立変数	オッズ比	オッズ比(95%信頼区間)	P
性別 (男性)		2.12 (0.86 - 5.25)	0.10
年齢 (歳)		0.99 (0.95 - 1.03)	0.76
0M BMI (kg/m ²)		1.03 (0.93 - 1.14)	0.60
0M HbA1c (%)		1.06 (0.66 - 1.70)	0.80
$\Delta 3M$ eGFR (mL/min per 1.73 m ²)		0.94 (0.87 - 1.01)	0.10
$\Delta 3M$ α_1 MG/Cre (mg/gCr)		0.90 (0.82 - 0.99)	0.025 *
$\Delta 3M$ FENa (%)		1.00 (0.99 - 1.01)	0.78
	0.1 1.0 10		

* : $P < 0.05$

スティック回帰分析で $P < 0.1$ となる $\Delta 3M$ のeGFR, 尿中 α_1 -MG/Cr, FENaに加え, 年齢, 性別, 0か月のBMIとHbA1cを独立変数とし, 12か月後の尿中ACRの20%の減少が生じるかを説明変数とする多変量ロジスティック回帰分析をおこなったところ, 12か月後の尿中ACRの20%の減少は $\Delta 3M$ の α_1 -MG/Crと有意な関連が認められた（オッズ比0.90（95%信頼区間：0.82-0.99）, $P = 0.025$ ）（表5）。

考 察

本研究では, DPP-4阻害薬であるシタグリプチンによる2型糖尿病症例における腎保護効果の可能性について検討を行った。解析を行った全症例においては, シタグリプチンの開始前後でHbA1cは有意に低下しており, 血圧には有意な変化は認めなかった。代表的な糖尿病性腎症のサロゲートマーカーであるアルブミン尿には有意な減少は認められなかったが, eGFRは有意に減少しており, また尿中C-メカリン/Crは有意に増加していた。一方で, 12か月時点でACRが20%以上減少する症例は全体の30%程度いたことから, その予測因子を検討したところ, 血糖や血圧とは独立して, 3か月時点の尿中 α_1 -MG/Crが減少していることが挙げられた。 α_1 -MGはメカリンのリガンドであり, メカリンの発現や機能により, 尿中へのその逸脱が大きく左右される。すなわち, 尿中 α_1 -MG/Crの減少は, 近位尿細管機能の改善ということだけでなく, メカリンの再吸収機能が回復したことを示唆している。さらに, 尿中ACR, α_1 -MG/Crが減少した群で尿中C-メカリン/Cr量が不変であったことは, メカリンの蛋白質再吸収機能の回復が近位尿細管での代謝負荷には結びついていないことを示唆していると考えられた。

これまでに, 動物実験などの基礎的な検討においては, DPP-4阻害薬による糖尿病もしくは糖尿病性腎症モデルに対する腎保護効果に関する多数の報告がなされている¹⁰⁾。それらの報告では, DPP-4阻害薬による抗炎症作用や抗酸化ストレ

ス, ミトコンドリア機能の改善, さらには尿細管間質における抗線維化作用などが示されており, 多くの検討において蛋白尿やアルブミン尿の改善を認めていた¹⁰⁾。しかし, DPP-4阻害薬による直接的な近位尿細管細胞に対する効果を検討した報告は, インドキシル硫酸¹¹⁾や脂肪酸含有アルブミン¹²⁾などの腎毒性物質からの保護効果を示した培養細胞における検討に限られていた。また, 臨床においても同様に, 直接的な近位尿細管に対する効果を検討した報告はほとんどなされていない¹³⁾。本研究では, 尿中 α_1 -MG/CrおよびC-メカリン/Crの検討などから, 3か月時点での近位尿細管機能の改善が12か月後の尿中ACRの減少をもたらす可能性を示したが, 今後の更なる検討が必要であると考えられた。

前述のように, 基礎的な検討においてはDPP-4阻害薬による腎保護効果が示されており, かつ序文で紹介したように, 少数の検討ではアルブミン尿の減少が報告されているものの, これまでに行われた2型糖尿病症例を対象とした前向き大規模試験において, DPP-4阻害薬がアルブミン尿の減少も含めた腎保護効果をもたらすというエビデンスは必ずしも得られていない¹⁴⁾。さらに, DPP-4阻害薬を用いた36の二重盲検ランダム化比較試験(RCT)における54,664人のメタアナリシスでは, DPP-4阻害薬とプラセボまたは他の経口血糖降下薬との比較における, 腎不全への進行に有意差はなかった¹⁵⁾。最近, 報告されたMARLINA-T2D試験は, アルブミン尿を呈する2型糖尿病患者を対象とし, DPP-4阻害薬のリナグリプチンを用いて6か月間介入し, アルブミン尿に対する効果を検討した試験であるが, 有意なその抑制効果は確認できなかった¹⁶⁾。同試験では, アルブミン尿区分別の解析も行っており, 20%以上のアルブミン尿減少効果を認めた症例（全体の40%程度）はリナグリプチン群に多く, 一方でアルブミン尿が増加した症例はリナグリプチン群で少なかった。また, リナグリプチンの介入の有無においてeGFRの変化に有意差は認められなかった。本研究においても, 全症例では尿中ACRの有意な減少は認められなかった,

さらに12か月後に20%以上の尿中ACR減少効果を認めた症例は30%程度存在したが、その群では有意にeGFRが低下していた。MARLINA-T2D試験では20%以上のアルブミン尿減少効果を認めた症例におけるeGFRの推移は述べられていないが、シタグリプチンを用いた大規模試験であるTECOS試験¹⁷⁾では、プラセボ群に比較して内服群で有意にeGFRが低下しており、これは糸球体過剰濾過が軽減された影響ではないかと考察されていた。以上より、本研究からはDPP-4阻害薬のシタグリプチンにより、3か月時点での近位尿細管機能の改善を得られた症例では、その後の尿中ACRの減少を認めるだけでなく、糸球体過剰濾過の軽減にもつながっている可能性が考えられた。しかし、その詳細な機序については明らかではなく、今後の基礎的な検討も含めた研究の進展を期待したい。

私たちの研究グループでは前述の通り、尿中メガリンが糖尿病性腎症¹⁸⁾や、慢性腎炎の最も多い原因疾患であるIgA腎症¹⁹⁾、小児有熱性尿路感染症における腎瘢痕の存在診断²⁰⁾の新しいバイオマーカーになりうる可能性を明らかにしてきたことから、この分野での新規バイオマーカーとしての臨床応用を検討している。さらに最近、C-メガリンの尿中排泄増加機序を解明するため、私たちは尿中細胞外小胞(UEVs)に着目した。超遠心法を用いて2型糖尿病患者からUEVsを分離し、腎症の病期に応じた動態をナノ粒子解析装置により評価し、UEVs中の各種マーカーの含有量をウエスタンブロットによって評価した。培養近位尿細管細胞(IRPTC)にメガリンのエンドサイトーシスリガンドであるアルブミンあるいはadvanced glycation endproduct (AGE)化アルブミンを与え、EVsおよびエクソソームの排出機構を検討した。さらに、高脂肪食負荷マウス(メガリンを介する腎障害モデル)におけるUEVsとそれに含有される全長型メガリン量の解析を行った。その結果、2型糖尿病患者において、腎症の病期の進行に応じてUEVs数およびその中の全長型メガリン含有量が増加することが分かった。さらにIRPTCのアルブミンおよびAGE化アル

ブミン取り込みによってエクソソームに搭載された全長型メガリンの排出が増加した。特にAGE化アルブミンによっては明らかなリソソーム障害が認められた。また、高脂肪食負荷マウスにおいてもUEVs数およびその中の全長型メガリン含有量が増加した。これらのことから、尿中全長型メガリン(C-メガリン)は、糖尿病性腎症の病態と進行にリンクして、残存機能ネフロン近位尿細管のエクソソーム-リソソーム系におけるメガリンを介するタンパク質代謝の質的・量的負荷に応じて、エクソソームに搭載されて尿中排泄が増加することがわかった²¹⁾。このような点を踏まえ本研究からは、尿中C-メガリン/Crが尿中 α_1 -MG/Crなどの既存のバイオマーカーとの組み合わせにて、その病態の解明を検討でき得る可能性が示唆された。これまでに、いくつかのバイオマーカーの組み合わせにて、その腎保護効果を検討した報告はほとんどないと考えられ、病態解明につながる新しい解析方法として、尿中C-メガリンを用いた研究を進展させていく予定である。

本研究の限界として、症例数が少ないこと、研究期間が短いこと、そして対照群のない非ランダム化の検討であることが挙げられ、今後、より長期におけるRCTを検討している。

結 論

2型糖尿病症例において、シタグリプチン開始3か月後に尿中 α_1 -MG/Crが減少する(すなわち近位尿細管におけるメガリンの再吸収機能が回復する)ことは、血糖および血圧とは独立して、12か月後の尿中ACRの減少を予測する因子であった。今後、RCTやより詳細な基礎的な検討から、DPP-4阻害薬による腎保護効果が明らかにされることを期待する。

謝 辞

最後に、本研究において御指導を賜りました新潟大学大学院医歯学総合研究科腎・膠原病内科学分野 成田一衛教授、機能分子医学講座 斎藤亮彦特任教授、病態栄養学講座 細島康宏特任准教授、蒲澤秀門特任助教に深謝いたします。なお、本研究は財団法人地域医学研

究基金の研究助成を受けています。

文 献

- 1) Verspohl EJ: Novel therapeutics for type2 diabetes: incretin hormone mimetics (glucagon-like peptide-1 receptor agonists) and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Pharmacol Ther* 124: 113-138, 2009.
- 2) Mentlein R: Dipeptidyl-peptidase IV (CD26) role in the inactivation of regulatory peptides. *Regul Pept* 85: 9-24, 1999.
- 3) Girardi AC, Knauf F, Demuth HU and Aronson PS: Role of dipeptidyl peptidase IV in regulating activity of Na⁺/H⁺ exchanger isoform HE3 in proximal tubule cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 287: C1238-1245, 2004.
- 4) Benjamin M. Scirica, M.D., M.P.H., Deepak L. Bhatt, M.D., M.P.H., Eugene Braunwald, M.D., P. Gabriel Steg, M.D., Jaime Davidson, M.D., Boaz Hirshberg, M.D., Peter Ohman, M.D., Robert Frederick, M.D., Ph.D., Stephen D. Wiviott, M.D., Elaine B. Hoffman, Ph.D., Matthew A. Cavender, et al: Saxagliptin and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 369: 1317-1326, 2013.
- 5) Per-Henrik Groop, Mark E. Cooper, Vlado Perkovic, Angela Emser, Hans-Juergen Woerle and Maximilian von Eynatten: Linagliptin Lowers albuminuria on top of recommended standard treatment in patients with type2 diabetes and renal dysfunction. *Diabetes care* 36: 3460-3468, 2013.
- 6) Hiroko Mori, Yosuke Okada, Tadashi Arao and Yoshiya Tanaka: Sitagliptin improves albuminuria in patients with type2 diabetes mellitus. *J Diabetes Investig* 5: 313-317, 2014.
- 7) Kodera R, Shikata K, Kataoka HU, Takatsuka T, Miyamoto S, Sasaki M, Kajitani N, Nishishita S, Sarai K, Hirota D, Sato C, Ogawa D and Makino H: Glucagon-like peptide-1 receptor agonist ameliorates renal injury through its anti-inflammatory action without lowering blood glucose level in a rat model of type 1 diabetes. *Diabetologia* 54: 965-978, 2011.
- 8) Ogasawara S, Hosojima M, Kaseda R, Kabasawa H, Yamamoto-Kabasawa K, Kurosawa H, Sato H, Iino N, Takeda T, Suzuki Y, Narita I, Yamagata K, Tomino Y, Gejyo F, Hirayama Y, Sekine S and Saito A: Significance of urinary full-length and ectodomain forms of megalin in patients with type2 diabetes. *Diabetes Care* 35: 1112-1118, 2012.
- 9) Saito A, Sato H, Iino N and Takeda T: Molecular mechanisms of receptor-mediated endocytosis in the renal proximal tubular epithelium. *J Biomed Biotechnol* 2010: 403272, 2010.
- 10) Takagaki Y, Koya D and Kanasaki K: Dipeptidyl peptidase-4 inhibition and renoprotection: the role of antifibrotic effects. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 26: 56-66, 2017.
- 11) Wang WJ, Chang CH, Sun MF, Hsu SF and Weng CS: DPP-4 inhibitor attenuates toxic effects of indoxyl sulfate on kidney tubular cells. *PLoS One*. 9: e93447, 2014.
- 12) Tanaka Y, Kume S, Chin-Kanasaki M, Araki H, Araki SI, Ugi S, Sugaya T, Uzu T and Maegawa H: Renoprotective effect of DPP-4 inhibitors against free fatty acid-bound albumin-induced renal proximal tubular cell injury. *Biochem Biophys Res Commun*. 470: 539-545, 2016.
- 13) Tonneijck L, Smits MM, Muskiet MH, Hoekstra T, Kramer MH, Danser AH, Ter Wee PM, Diamant M, Joles JA and van Raalte DH: Renal Effects of DPP-4 Inhibitor Sitagliptin or GLP-1 Receptor Agonist Liraglutide in Overweight Patients With Type 2 Diabetes: A 12-Week, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Diabetes Care*. 39: 2042-2050, 2016.
- 14) Scheen AJ and Delanaye P: Renal outcomes with dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Diabetes Metab*. 44: 101-111, 2018.
- 15) Rehman MB, Tudrej BV, Soustre J, Buisson M, Archambault P, Pouchain D, Vaillant-Roussel H, Gueyffier F, Faillie JL, Perault-Pochat MC, Cornu C and Boussageon R: Efficacy and safety

- of DPP-4 inhibitors in patients with type 2 diabetes: Meta-analysis of placebo-controlled randomized clinical trials. *Diabetes Metab.* 43: 48-58, 2017.
- 16) Groop PH, Cooper ME, Perkovic V, Hocher B, Kanasaki K, Haneda M, Schernthaner G, Sharma K, Stanton RC, Toto R, Cescutti J, Gordat M, Meinicke T, Koitka-Weber A, Thiemann S and von Eynatten M: Linagliptin and its effects on hyperglycaemia and albuminuria in patients with type 2 diabetes and renal dysfunction: the randomized MARLINA-T2D trial. *Diabetes Obes Metab.* 19: 1610-1619, 2017.
- 17) Green JB, Bethel MA, Armstrong PW, Buse JB, Engel SS, Garg J, Josse R, Kaufman KD, Koglin J, Korn S, Lachin JM, McGuire DK, Pencina MJ, Standl E, Stein PP, Suryawanshi S, Van de Werf F, Peterson ED, Holman RR; TECOS Study Group. Effect of Sitagliptin on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 373: 232-242, 2015.
- 18) Ogasawara S, Hosojima M, Kaseda R, Kabasawa H, Yamamoto-Kabasawa K, Kurosawa H, Sato H, Iino N, Takeda T, Suzuki Y, Narita I, Yamagata K, Tomino Y, Gejyo F, Hirayama Y, Sekine S and Saito A: Significance of urinary full-length and ectodomain forms of megalin in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 35: 1112-1118, 2012.
- 19) Seki T, Asanuma K, Asao R, Nonaka K, Sasaki Y, Oliva Trejo JA, Kurosawa H, Hirayama Y, Horikoshi S, Tomino Y and Saito A: Significance of urinary full-length megalin in patients with IgA nephropathy. *PLoS One.* 9: e114400, 2014.
- 20) Yamanouchi S, Kimata T, Kino J, Kitao T, Suruda C, Tsuji S, Kurosawa H, Hirayama Y, Saito A and Kaneko K: Urinary C-megalin for screening of renal scarring in children after febrile urinary tract infection. *Pediatr Res.* 83: 662-668, 2018.
- 21) De S, Kuwahara S, Hosojima M, Ishikawa T, Kaseda R, Sarkar P, Yoshioka Y, Kabasawa H, Iida T, Goto S, Toba K, Higuchi Y, Suzuki Y, Hara M, Kurosawa H, Narita I, Hirayama Y, Ochiya T and Saito A: Exocytosis-Mediated Urinary Full-Length Megalin Excretion Is Linked With the Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. *Diabetes.* 66: 1391-1404, 2017.

(平成30年5月31日受付)