

受付番号005

共同研究実施計画書

平成25年7月16日

公益財団法人SBS静岡健康増進センター理事長

松井 純 様

共同研究担当者

所 属 静岡県立大学薬学部 生体機能分子分析学分野

助教 関 俊哲



規定により、次のとおり共同研究実施計画書を提出します。

1, 研究題目:

ヒト爪を用いた「かくれ糖尿病リスク者早期検出技術」に関する研究

2, 研究の目的及び内容:

目的: 従来の臨床検査試料である血液、尿、唾液とは異なり、ヒト手の爪は採取が容易で痛みを伴わず、長期保存が可能である。また、爪は数ヶ月以上の長期にわたる体内の栄養状態や過去の薬物使用履歴が残され、非侵襲的に採取が可能である。本研究の目的は、ヒト爪を用いた「かくれ糖尿病リスク者(糖尿病境界領域患者)」をターゲットとした非侵襲的な早期検出システムの確立、キットの開発である。また、各臨床検査機関などで本キットを用いた「来院することなく、爪を郵送することによるかくれ糖尿病早期診断への有用性」を検証する。

内容: 従来の血糖値の測定や尿検査と異なる新しい生体試料としてヒト手の爪を用いて、爪中D/L-アミノ酸量を煩雑に定量することなく、シンプルにピーク面積比のみを分析することで糖尿病患者、かくれ糖尿病リスク者、健常者(各150名程度)との間で従来の判定方法(血糖値、HbA1cなど)との結果を比較し、D/L-アミノ酸比による糖尿病リスクを判断する評価法としての有用性を検討する。また、アセチルアミノ酸、新規バイオマーカー等の低分子代謝物を対象とし、選択的誘導体化による高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析(LC-MS/MS)測定法を開発し、健常人及びかくれ糖尿病リスク者、

糖尿病疾患患者の爪を分析し、早期診断法としての有用性を評価する。なお、糖尿病患者の爪の採取は那珂記念クリニックで行い、健常人（コントロール）、かくれ糖尿病リスク者の爪は、公益財団法人SBS静岡健康増進センターにおいては研究期間中の人間ドック受診者を対象とし、書面ならびに口頭にて十分な説明を行い、同意を得た後、爪を採取する。

3, 研究期間

平成 25 年 研究倫理審査許可日 ～ 平成 27 年 3 月 31 日

4, 研究の実施場所:

静岡県立大学薬学部

株式会社テクノスルガ・ラボ

医療法人健清会 那珂記念クリニック

公益財団法人 SBS 静岡健康増進センター

5, 研究費

(1) 平成25年度 公益財団法人静岡県産業振興財団 地域活性化事業産学官連携研究開発助成事業研究費

研究題目: ヒト爪を用いた「かくれ糖尿病リスク者早期検出キット」に関する研究開発

6, 研究対象

(1) 選択方針

対象者には、書面ならびに口頭にて本研究の目的、内容、方法、起こりうる利益と不利益についての説明を行い、同意が得られた場合のみ本研究の被験者になっていただき、同意書に署名後も撤回の求めがあれば速やかにこれに応じるものとした。慢性疾患患者爪の採取は、臨床現場の医師の下で行う。なお、静岡県立大学、SBS 静岡健康増進センター、那珂記念クリニックでの倫理委員会の承認も受ける。

爪試料は本研究以外に使用することは一切せず、得られたデータについても個人情報保護法を遵守し、個人が特定される形式での発表（論文・学会発表）は行わない。すなわち、データの連結不可能匿名化などヘルシンキ宣言、臨床研究に関する倫理指針（厚生労働省）、静岡県立大学並びにSBS静岡健康増進センターの規定に準拠して行う。

上記のうち、糖尿病患者の爪の採取は那珂記念クリニックで行い、SBS静岡健康増進センターでは健常者および糖尿病境界領域患者の爪の採取のみを担当する。

(2) 選択基準

● 糖尿病患者及び境界領域患者：

- ① 同意取得時の年齢：20歳から65歳までの日本人男女
- ② 当日の検査値が以下に該当する方
 - A) 空腹時血糖値が $\geq 126\text{mg/dl}$ 、随時血糖値 $\geq 200\text{mg/dl}$ 、HbA1c $\geq 6.5\%$ (NGSP値) に該当される方 (糖尿病患者)
 - B) $5.6\% \leq \text{HbA1c} \leq 6.4\%$ に該当する方で、 $110\text{mg/dl} < \text{空腹時血糖値} < 126\text{mg/dl}$ 、 $140\text{mg/dl} < \text{随時血糖値} < 200\text{mg/dl}$ を参考値とする (境界領域患者)
- ③ 糖尿病の薬を使用している方も対象とする。服薬時間、薬名を明記すること。
- ④ 本研究の目的を理解して頂き、同意頂ける方。

● 健常者ボランティア

- ① 同意取得時の年齢：20歳から65歳までの日本人男女
- ② 当日の検査値がHbA1c $< 5.6\%$ に該当する方で、空腹時血糖値 $< 110\text{mg/dl}$ 、随時血糖値 $< 140\text{mg/dl}$ を参考値とする。
- ③ 薬を使用していない方
- ④ 本研究の目的を理解して頂き、同意頂ける方

(3) 除外基準

● 糖尿病患者，境界領域患者

- ① 糖尿病の薬 (インスリン、インスリン分泌促進剤、血糖降下剤、血糖上昇抑制剤等) を服用している方で当日の検査値が空腹時血糖値 $\leq 110\text{mg/dl}$ 、HbA1c $\leq 5.6\%$ いずれか該当される方
- ② 他の臨床試験に参加している方。
- ③ 重篤な肝障害、腎障害、心疾患等の既往歴のある方。
- ④ 肝炎の既往歴、現病歴のある方。

- ⑤ 3ヶ月前からアミノ酸のサプリメントを服用している方。
- ⑥ マニキュア、ネイルを使用している方。

7. 研究計画・方法

(1) ヒト爪中D/L-アミノ酸分析によるかくれ糖尿病リスク者の評価法としての有用性の検証 (平成25年 研究倫理審査許可日～平成26年3月)

これまで健常者と糖尿病患者各20名によるヒト爪中D/L-アミノ酸の定量値、ピーク面積比において有意差が得られましたが、血糖値やHbA1cによる血糖コントロール状態(病態ステージ)と爪のD/Lアミノ酸比との相関関係の解析が行われておらず、かくれ糖尿病リスク者の検証が行われていない。そこで、本研究では、SBS静岡健康増進センター、テクノスルガ・ラボ、那珂記念クリニックと連携し、健常者、かくれ糖尿病リスク者、糖尿病患者について中規模な被験者(各150名程度)でアミノ酸光学異性体のピーク面積D/L比と現状で糖尿病の診断に使用されている指標(血糖値、HbA1cなど)との比較再検証を行い、ヒト爪中D/Lアミノ酸比によるかくれ糖尿病リスク者判断評価法としての有用性を検討する。

(2) 爪特有新規バイオマーカーの鑑別・同定及びかくれ糖尿病の早期診断への有用性 (平成26年 4月～平成27年3月)

現在、臨床検査試料として主に血液・尿などを用いるため、疾病診断には医療機関に向いて検査を受けなければならない。一方、ヒトの爪は自宅で採取し、検査が可能である。これまで当研究室では、遺伝的に糖尿病を自然発症するマウスを用いて、メタボローム解析による糖尿病関連バイオマーカー探索で、血漿、体毛、肝臓、腎臓、いずれの試料でも糖尿病群は健常群と比べ、*N-acetyl-leucine*の減少が確認され、糖尿病診断の新規バイオマーカーになる可能性が示唆された。しかし、ヒトの代謝においても*N-acetyl-leucine*が糖尿病診断の新規バイオマーカーとして有用であるかは不明であった。そこで、本研究では低分子代謝物を対象とし、選択的誘導体化による高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析(LC-MS/MS)測定法を開発し、健常人及びかくれ糖尿病リスク者、糖尿病患者の爪を分析し、得られたデータを多変量解析による主成分分析を行い、健常人群と患者群のメタボロームプロファイリングを実施し、健常人群と患者群に大きく差のある物質を鑑別・同定を行い、患者の爪に特有で代謝において鍵となるバイオマーカーを特定する。さらに上記のデータを総括し、爪を用いたかくれ糖尿病リスク者の早期診断への有用性を検証する。爪中かくれ糖尿病診断の新規バイオマーカーを特定することで、特に糖尿病になる直前の未病状態を検知して糖尿

病の早期予防を実現し、生活習慣の改善や軽度の治療で身体を健康な状態に戻すことができるような臨床検診法の確立を目指す。

(3) 症例数

探索研究であり、予算内の爪サンプルの採取を行うため、以下に示した症例数を予定している。健常者 150人； 糖尿病境界領域患者 150人； 糖尿病患者 150人。

(4) 採血の有無

本研究のための採血は行わず、血液データ（HbA1c、血糖値）は、被験者が検診施設等で検査されたデータを使用する。

(5) 爪サンプル中測定項目

ヒト爪中のD,L-アミノ酸、アセチルアミノ酸、*N*-acetyl-leucineをはじめとする低分子代謝物を対象としている。

8, 研究に参加することにより期待される利益および、起こりうる危険ならびに必然的に伴う心身に対する不快な状態と当該研究終了後の対応

本研究では薬物などの投与、爪採取用の特別な器具の使用が無いため、重大な危険は予測されない。しかし、研究の説明や爪の採取などのために、時間的（15分程度）に拘束される。また、爪採取において人に見られることに不快感を覚える協力者もいるものと予想されるが、それには個室を用意して対応する。

9, 試験中止基準

- (1) 研究を継続することが困難となった場合
- (2) 有害事象の発現により、研究を中止すべきと判断した場合
- (3) この研究への参加が不適切であることが判明した場合
- (4) 被験者の都合により必要な観察・検査の実施が不可能であることが判明した場合
- (5) 被験者が本試験実施計画に著しく違反し、この臨床研究の適正な評価が不可能であると判断した場合
- (6) 被験者が同意を撤回した場合

(7) この臨床研究全体の中断もしくは中止が決定した場合

10、症例登録とデータ収集

(1) 症例登録

担当者は、本研究の症例選択基準を満たし、除外基準に該当しないことが確認された症例に対し、本研究に参加に関する同意を文書にて取得し、研究代表者に連絡し、症例登録を行う。

(2) データの集積

登録症例のデータは、調査票を用いて静岡県立大学薬学部薬学部 生体機能分子分析学分野教室に集積する。

11、統計学的事項

(1) 解析方法

Waters社のMarkerLynx™ XSメタボローム解析プログラムを駆使し、健常者、慢性疾患患者の爪のメタボライトプロファイリング解析によりヒト爪に特異的に蓄積しやすい新バイオマーカーを抽出・同定を行う。

(2) 予定登録症例数

健常者 150人； 糖尿病境界領域患者 150人； 糖尿病患者 150人

(3) 登録期間

平成25年 研究倫理審査許可日～平成27年3月31日

12、記録の保存

所定の同意書に、説明をした者、説明を受け同意した受診者が同意を得た日付を各々自署する。

同意文書は複写を2部作成し、1部は研究参加者本人に手渡し、1部は施設で保管する。

13、研究成果の発表

公表の際には、被験者のプライバシーを保全する。

1 4, 利益相反について

本研究の計画・実施あるいは報告において、試験の結果及び結果の解釈に影響を及ぼすような利益相反はない。また、研究の実施が被験者の権利・利益を損ねることはない。

1 5, 臨床研究の費用

爪検査は教室の研究費で支払い、無償とする。血液検査については、健診施設等で検査されたデータを使用し、費用は被験者の負担とする。

1 6, 研究参加に対する謝礼の支払い

研究参加に対する金銭的謝礼はない。

1 7, 健康被害補償

本臨床研究は臨床保険に加入していない。研究の実施に起因して被験者に健康被害が生じた場合には、研究担当医師は十分な治療並びにその他の適切な処置を行うとともに、その原因の究明につとめる。さらに、必要に応じて研究費の範囲内での金銭面での補償を行う。