

腎不全リスク推定システムに基づくオーダーメイド医療の確立

◆下条 文武¹⁾ ◆成田 一衛²⁾ ◆坂爪 実¹⁾

1) 新潟大学医歯学総合病院 2) 新潟大学医歯学総合研究科

<研究の目的と進め方>

本研究の目的は、ゲノム多型情報を利用した腎不全リスク推定システムを構築し、それに基づいて原発性糸球体腎炎をはじめとする腎疾患の治療に介入し、より確実な治療効果の実現を最終的な目的とした、前向き(prospective)な介入研究を行うことである。

現在までの私共の研究で、腎疾患の進行因子として解析されてきた遺伝子多型群は、それぞれ単独では個々の症例の腎機能予後を推定し治療に介入できるだけのインパクトは無いが、それらの相互作用・相乗作用を解析することは臨床的にも有用性が高いことを明らかにし、報告した。それらの所見をもとに、本研究では腎疾患に対して臨床所見とともにゲノム多型情報を導入した腎不全リスク推定システムを構築し、治療介入への基盤となるデータを得る。

<2007年度の研究の当初計画>

既報の遺伝子群の相互作用・相乗作用を解析する。特に IgA 腎症については、10～30年以上の腎機能予後をエンドポイントとした生存分析を、複数の遺伝子型の組み合わせ毎に行う。また、gene-gene interaction を評価するため multifactor-

dimensionality reduction (MDR) 等による解析を行い、複数の遺伝子を解析に組み入れた場合に、最も正確に予後を推定できる組み合わせを探索する。さらに、治療に対する反応性、腎機能の長期予後を判定するシステム(特許出願中、業績9,10)を臨床に適用する。

また、治療反応性ならびに腎機能の長期予後と上記遺伝子多型群との関連性を解析する。この際に、申請者らが開発した IgA 腎症における糖鎖不全検出法や腎疾患の活動性判定法を応用する。

以上の結果を統合して、最終的には臨床的に有用な、腎機能予後推定システムを構築する。このシステムを利用した治療への介入を実現するため、prospective study を行うための体制を確立する。

<2007年度の成果>

申請者らは、一貫して慢性腎不全の病態解析ならびに糸球体腎炎の発症・進展機序の解明と有効な治療法の確立を目的として、臨床病理学および細胞・分子生物学的な研究を行ってきた。臨床面でも、申請者らのチームは年間400例以上の腎生検症例を経験し、現在までに1万3千例以上の腎生検組織所見に関するデータベースを構築し、長期的な経過観察も継続している。同時に、現在までに約1,400例(IgA腎症380例を含む)の遺伝子を連結可能匿名化し、保存した。しかも、このデータベースは、組織病理所見および臨床経過データベースと連結されており、遺伝子解析後に必要なデータだけを効率よく引き出し、統計学的解析を即時に行うことが可能となっている。

申請者らは特に IgA 腎症の進行に影響を与える遺伝子多型を現在まで明らかにしてきたが、これらの中でレニン-アンジオテン

シン-アルドステロン系(RAS)の遺伝子多型の他に、 α -adducin, Sa, G-protein β 3 subunit などの高血圧候補遺伝子の多型が、IgA腎症の長期予後に影響する可能性を見出した。一方、高度蛋白尿や血圧上昇などの臨床的な危険因子と比較して、上記の遺伝子多型の単独でのインパクトは弱いということも明らかになってきたが、それらの遺伝子多型に対する感受性にも個体差があり、他の遺伝子多型や性差などによって規定される可能性が高いことを報告した。

多様な腎疾患において、腎機能低下の進行過程には共通の機序が働いていると考えられるため、これらの SNP と腎機能低下の関連性は、IgA腎症のみでなく他の腎疾患に敷衍できる可能性が高い。

<国内外での成果の位置づけ>

この遺伝子多型に対する感受性の個体差の機序を明らかにすることは、ゲノム多型情報の臨床応用にとって、必要不可欠の課題である。また、原発性糸球体腎炎の中でも IgA 腎症は、早期に扁桃摘出とステロイドパルス療法を行うことにより、80%以上の完全寛解率が得られることが分かってきたが、全例にこの治療法を行うことは、副作用や医療費の面から問題がある。したがって、遺伝子多型を含めた情報から腎不全リスクを推定し、治療法に介入できれば本疾患の予後を改善させることが可能である。

IgA腎症をはじめとする腎臓病の遺伝的背景解明の試みは、国内外で行われているが、本研究では保有するデータベースの規模が単一施設では最大であり、経年的な予後を含む詳細な臨床データと定量化された組織病理所見がリンクしているため、腎機能低下のリスクを評価することが可能である。また、この臨床データは随時更新されており、腎疾患におけるゲノム解析と前向きコホート研究を可能としている。このような性格を有するデータベースは、国内唯一であり世界でも稀である。

腎臓病を有する症例は、潜在的に高血圧候補遺伝子に対する感受性が亢進している状態にある。その感受性の個体差の機序解明は、ゲノム医学の臨床応用にとって必要不可欠の事項である。したがって、本研究は高血圧研究、腎疾患研究の両面から注目される研究と位置づけられる。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

複数の遺伝子の組み合わせにより、腎機能予後を確実に推定できること、ARBやACEiなどのRAS阻害薬の治療効果にRAS系の遺伝子が関連することを後ろ向き解析により証明し得た。これらの成果は、今まで私共が蓄積してきた長期的(平均観察期間90ヶ月)な腎機能予後のデータが基盤となっている。一方、いままでの成果に基づいた前向き研究が今後必要となるが、短期的な観察から長期的(20～30年後の)腎機能の予後と治療効果を推定するうえで、もっとも重要な臨床データは、腎疾患においては蛋白尿であることが分かっている。この点について、治療開始

後数ヶ月の時点における蛋白尿のデータは、私共のデータベースによる後ろ向き研究においては必ずしも得ることができなかったため、今後は症例毎に新たにデータを収集する必要がある。また、前述の尿中細胞検査や尿蛋白のプロテオミクス解析を組み合わせ、より正確な腎障害と治療効果の評価を取り入れて行く必要がある。

腎機能の予後と関連するものとして今まで私共が報告してきた遺伝子群を、MDRにより解析することで複数の遺伝子同士の相乗作用が明らかにできると予想したが、現在の所、期待したような結果は得られていない。おそらく、単純なMDRでは時間・経過的な要素が解析に含まれていないことが要因であり、他の解析方法を開発する必要があると考えられる。

疾患感受性遺伝子を同定するうえで、さらに機能的候補遺伝子の数を増やす必要がある。今後は他施設との共同研究を進める。すでに大阪大学（オーダーメイドのSNPチップによる解析）、東海大学（ゲノムワイドマイクロサテライトマーカーを用いた国内多施設研究）との共同研究を開始した。両者とも相互の施設での倫理審査で承認を得ており、大阪大学との研究では、すでに約100個のSNP解析を終了した。今後臨床所見との関連性を解析する。

また、この一連の研究を進める中で、当初考えられていたよりも、家族性IgA腎症の家系が少なくないことが分かってきた。今後、家系データを活かした疾患感受性遺伝子の同定を進める。現在までに約30家系を新潟県内に確認し、ゲノムDNAの抽出を進めている。

<今後の課題>

ヒトIgA1分子は、ヒンジ部に糖鎖を有する特殊な構造を持っている。最近、このヒンジ部の糖鎖構造の異常（糖鎖不全）を持つIgA分子は自己凝集、糸球体への高親和性、IgG抗体との免疫複合体形成、代謝排泄の遅延などの性質を有し、しかもIgA腎症患者血清中に増加していること分り、IgA腎症の根本的な発症機序に関与していると考えられるようになってきている。しかし、IgAの糖鎖不全を解析する手段は、アフィニティークラムによるIgAの精製とMuldi-TOF/MSによる質量分析など、複雑な工程と高価な機器が必要であり、研究の域を出ていない。多数の検体の糖鎖不全IgAを短時間で測定できれば、IgA腎症発症機序の解明ばかりでなく、予防や治療効果の判定など臨床に応用でき、有用性は高い。私共の考案した方法（業績10）は、この問題を解決する目的で開発した。この方法の有用性は少数例で確認することはできたが、扁桃摘出術などの治療後の不全糖鎖の変化を確認するには症例数が少ないため、至っていない。今後、症例数を重ね、測定方法の有用性をさらに検討する必要がある。

IgA腎症などの腎疾患の疾患感受性遺伝子の同定も併行して進める必要がある。欧米の多施設共同研究により複数の連鎖領域が報告されているが、責任遺伝子の特定には至っていない。十分な数のIgA腎症家系と症例数を収集し、ゲノムワイドな連鎖解析を行い、責任遺伝子とその変異を同定する。

さらに以前から収集してきた孤発例のゲノムを使って関連解析を行い、両者の結果を比較することにより、クロスする部分が疾患感受性遺伝子として最も有力なものとして判断される。また、その遺伝子は疾患の進行にも関連する可能性が高いため、腎機能低下をエンドポイントとした生存分析を行う。

<成果公表リスト>

<論文発表>

1. 0612201057

Narita, I, Kaneko, Y., Kondo, D., Goto, S., Sakatsume, M., Gejyo, F., The genetic susceptibility to IgA nephropathy: A novel functional candidate gene for incomplete O-glycosylation of IgA1, *Kidney Int*, 71(5), 379-381 (2007)

2. 0612201109

Tsubata, Y., Sakatsume, M., Ogawa, A., Alchi, B., Saga, D., Kaneko, Y., Kuroda, T., Kawachi, H., Narita, I., Yamamoto, T., Gejyo, F., Expression of allograft inflammatory factor-1 in kidneys: a novel marker of podocyte, *Kidney Int*, 70(11), 1948-1954 (2006)

3. 0701241813

Ogawa, A., Sakatsume, M., Wang, X., Sakamaki, Y., Tsubata, Y., Alchi, B., Kuroda, T., Kawachi, H., Narita, I., Shimizu, F., Gejyo, F., SM22[alpha]:The novel phenotype marker of injured glomerular epithelial cells in anti-glomerular basement membrane nephritis, *Nephron Exp Nephrol*, 106: e77-87 (2007)

4. 0701241817

Alchi, B., Nishi, S., Narita, I., Gejyo, F., Collagenofibrotic Glomerulopathy: Clinicopathologic Overview of a Rare Glomerular Disease, *Am J Kid Dis*, 49(4), 499-506 (2007)

5. 0704261542

Ajiro, J., Alchi, B., Narita, I., Omori, K., Kondo, D., Sakatsume, M., Kazama, J.J. Akazawa, K., Gejyo, F., Mortality predictors after 10 years of dialysis: A Prospective Study of Japanese Hemodialysis Patients, *Clin J Am Soc Nephrol*, 2:653-60 (2007)

6. 0704261548

Sakatsume, M., Kubota, R., Ogawa, A., Narita, I., Matsuda, T., Shiba, K., Gejyo, F., Rapid and sensitive electrophoresis of urinary protein clearly reveals the pathophysiological feature of renal diseases, *Nephrology (Carlton)*, 12(2), 191-196 (2007)

7. 0705011536

Imai, E., Horio, M., Iseki, K., Yamagata, K., Watanabe, T., Hara, S., Ura, N., Kiyohara, Y., Hirakata, H., Moriyama, T., Ando, Y., Nitta, K., Inaguma, D., Narita, I., et al., Prevalence of chronic kidney disease (CKD) in the Japanese general population predicted by the MDRD equation modified by a Japanese coefficient, *Clin Exp Nephrol*, 11:156-63 (2007)

8. 0705011814

Imai, E., Horio, M., Nitta, K., Yamagata, K., Iseki, K., Hara, S., Ura, N., Kiyohara, Y., Hirakata, H., Watanabe, T., Moriyama, T., Ando, Y., Inaguma, D., Narita, I., et al., Estimation of glomerular filtration rate by the MDRD study equation modified for Japanese patients with chronic kidney disease, *Clin Exp Nephrol*, 11(1), 41-50 (2007)

<特許>

9. 0608061617

特願 2005-055723 坂爪実, 下条文武, 成田一衛ほか(2005) 腎疾患の活動性判定法及びその装置

10. 0608061627

特願 2005-206461 成田一衛, 下条文武ほか (2005) 簡便迅速な糖鎖不全IgAの検出法