

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19231

研究課題名（和文）遺伝子多型と代謝プロファイルの関連解析に基づく高尿酸血症の予防医学研究

研究課題名（英文）Genome-Metabolome Association Study for Hyperuricemia

研究代表者

原田 成 (Harada, Sei)

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：10738090

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：鶴岡市民を対象としたコホート研究における大規模血漿メタボロミクス・プロファイルを用いて、尿酸関連遺伝子多型-血漿メタボローム-血清尿酸値の関連を検討した。血漿メタボロームと血清尿酸値は広範に関連していることが日本人において初めて示唆された。またABCG2は本集団においても血清尿酸値と関連しており、ABCG2の多型によって、一部の代謝物と血清尿酸値の関連が、異なる傾向を示すことが示された。特にジメチルグリシンは男女共通で、ABCG2遺伝子型により尿酸値との関連が逆方向になることが示唆された。今後のさらなる追跡調査により、遺伝子多型によるオーダーメイド予防医療につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The genome-metabolome association study for hyperuricemia was conducted in the large scale metabolomics cohort study in Tsuruoka City, Japan. It was clarified that most of plasma metabolites were associated with the level of serum uric acid in this first study among Japanese. It was also shown that ABCG2 polymorphism was associated with the level of serum uric acid, as well as concentrations of plasma metabolites. The relation between hyperuricemia and plasma metabolomic profile was partly affected by ABCG2 polymorphism. In particular, the relation between hyperuricemia and N,N-dimethylglycine was different by ABCG2 polymorphism in both of male and female. These findings suggest that further researches may proceed the tailor-made preventive medicine using genome and metabolome for hyperuricemia.

研究分野：メタボロミクス疫学

キーワード：メタボローム 疫学 遺伝子多型 個別化医療 予防医学 高尿酸血症 ABCG2 コホート研究

## 1. 研究開始当初の背景

生活習慣病領域でのオーダーメイド予防医療の実現を目指し、大規模コホートをを用いたゲノムワイド関連研究(GWAS)が実施され、その成果が報告されつつある。しかし生活習慣病は多因子遺伝病で環境要因との相互作用によって発症するため、検出されるエフェクトサイズが小さいことと、発症機序が不明なことが課題として明らかになってきている。

(Nature 2011;477:54-60)

特に遺伝子型に基づく予防医療を実施する上では、単に生来その個人が有しているリスクが明らかになるだけでは不十分であり、遺伝子型ごとの適切な介入方法の策定と、その介入によるリスク減少の評価の開発が必要と考えられたが、そのためには遺伝子型と疾患発症の間にある発症機序関連分子の寄与を疫学的に解明すること、すなわち発症機序の疫学的解明が重要である。

遺伝子多型に関する既存のGWASの知見を踏まえた上で、生体内の代謝メカニズムを明らかにする手法として挙げられるのが、ゲノム情報とメタボロームデータを組み合わせたゲノム-メタボロームワイド関連解析である。血液や尿中の生体内低分子化合物を網羅的・定量的に測定するメタボローム解析は、遺伝要因と環境要因によって複雑に影響される生体内の代謝動態変化を鋭敏に把握するために有用であり、疫学分野においても、フラミンガム研究における適用(Nat. Med.2011;17:448-454)をはじめとして過去に開始されたコホートから重要な成果が出されつつある。しかしサンプリングや保存による代謝物濃度の著しい変化など測定誤差発生制御が容易ではないため、メタボローム解析を適用した前向きコホート研究の必要性が増している。

筆者を含む研究グループは、メタボローム解析に優れる慶應義塾大学先端生命科学研究所と共同で、いち早く2011年から山形県鶴岡市で「鶴岡市民を対象とした地域コホート研

究」を立ち上げ、2012年4月~10月に収集した3000超の血漿・尿検体について、既にキャピラリー電気泳動質量分析(CE/MS)法によるメタボローム解析を完了していた。アミノ酸代謝物、中心炭素代謝物、核酸代謝物を含む100以上のイオン性/極性代謝物質を同定・完全定量済みで、さらに、血清尿酸値を含む健康・生活習慣データの収集、バフィーコートからのDNAの抽出も完了させていた。

そこで筆者は、この世界有数のメタボロームデータを基盤として、オーダーメイド予防医療の実現に向けて遺伝子型ごとの代謝プロファイルを明らかにする一つのモデルとして、高尿酸血症における遺伝子型別代謝プロファイルを解明する研究を提案した。

また、高尿酸血症が心血管イベントの独立した要因であることは、複数の前向きコホートから報告され、メタアナリシスにおいても示されている。(Arthritis Care Res. 2010; 62:170-80) さらに高血圧、耐糖能異常とも関連を示す、生活習慣病の重要な因子として知られている。その一方で、メカニズムの観点からは抗酸化作用を示して心血管イベントに対して保護的に働きうるとも考えられている。高尿酸血症は肥満を介してみかけ上心疾患イベントと関連するだけだという報告がされるなど依然議論が分かれており(BMJ 2013;347:f4262)、循環器疫学の分野における重要な課題のひとつである。議論が分かれる理由は、生活習慣病の原因となるメカニズムが不明な点が大きく、高尿酸血症による代謝影響を疫学的に示すことができれば、非常に価値ある知見となる。

一方、高尿酸血症については、近年のGWASをはじめとした分子疫学研究の進展により、関連遺伝子が複数報告されている。尿酸再吸収トランスポーターをコードするSLC22A12(URAT1)、SLC2A9(GLUT9)が日本

発の知見として知られている。(Nature. 2002;417: 447-452) (Am. J. Hum. Genet. 2008;83:744-751) また尿酸排出トランスポーターをコードするABCG2 に変異を持つ人は、従来知られていた尿中排泄低下型や産生過剰型とは異なり、尿中への尿酸排泄が上昇する一方で、腎外（腸管・胆汁）への排泄が低下する病型であることが示唆されている。(Sci. Transl. Med. 2009;1:5ra11) このことから、遺伝子多型により体内の尿酸動態が大きく異なるために、尿酸の代謝影響を検討する上においては、遺伝子多型を考慮することが必要であるが、これについて検討された研究は、筆者の知る限り見当たらなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では、抽出済のDNA を用いて高尿酸血症関連遺伝子の一塩基多型(SNP)をSNPtype法により解析した。複数のSNP を用いて対象者を層別化、既存のメタボロームデータを活用して疫学統計解析を行い、高尿酸血症による代謝影響の遺伝子多型による個別性を明らかにしてオーダーメイド予防医療の可能性を示すことを目的とした。

(1) 「鶴岡市民を対象とした地域コホート研究」の参加者でメタボローム解析の完了している3217名の集団について、抽出済DNA を用いて高尿酸血症関連遺伝子のSNP ジェノタイプ

グを行い、本集団における遺伝子多型の分布と、血清尿酸値との関連を明らかにした。

(2) 遺伝子多型により層別化した上で、血清尿酸値と血漿メタボローム(115 のイオン性/極性代謝物質)との関連を検討し、遺伝子多型による血清尿酸値の代謝影響の違いを示した。

## 3. 研究の方法

(1) 研究対象者

山形県鶴岡市民を対象としたコホート研究である「鶴岡市民を対象とした地域コホート研究」の参加者で、血漿メタボローム測定が完了し、DNA が抽出済である3217名の集団を対象とした。使用する抽出済DNA の収量は、ほとんどの検体で40 $\mu$ g 以上を超え、20 $\mu$ g を下回る検体は1%未満と良好であった。

### (2) SNPジェノタイプピング

SNPtype 法により高尿酸血症関連遺伝子(関連が強く、日本人でのリスクアレル頻度の高いABCG2、SLC2A9 等)のSNP ジェノタイプピングを実施した。SNP ジェノタイプピングは、愛知がんセンター研究所疫学・予防部(部長 田中英夫)が研究協力機関として実施をした。SNP ジェノタイプピングはFluidigm 社の 192.24 Dynamic Array™ integrated fluidic circuits を用いて複数のSNPs に対して同時にアレル特異的PCR を行った(SNPtype 法)。

### (3) 統計学的解析

得られた遺伝子多型情報と既存のメタボロームデータを組み合わせて、ゲノム-メタボロームワイド関連解析を実施した。本集団で血清尿酸値と関連した遺伝子多型により層別化し、多変量解析を駆使して血清尿酸値と関連する代謝物質および代謝経路を明らかにした。

さらに、ランダムに選定されたバリデーショコホートにおいて妥当性の検討を実施した。

(4) コホートとしての継続調査、追跡調査への基盤整備

本研究は時間断面研究であり、健康に関する生体情報が真にcausal であるかどうかは明確にはならないため、健康状態の変化を把握する追跡・継続調査へ向けた基盤整備を行った。

## 4. 研究成果

(1) 解析対象候補SNPs

本研究では、下記表1を主な解析対象と高尿酸血症関連遺伝子多型候補としてSNPジェノタイプピングを実施した。

表 1. 解析対象候補SNPs

遺伝子	代表的な SNP
ABCG2	Gln126Ter Gln141Lys
SLC2A9 (GLUT9)	Arg265His Arg380Trp
SLC22A12 (URAT1)	Trp258Ter Leu418Arg
ALDH2	Glu504Lys

これらのうち、ABCG2が強く血漿メタボロームとの関連を示したため、以下にABCG2の結果を本研究の主な成果として記述する。

(2) ABCG2トランスポーターの機能分布  
ABCG2のGln126Ter(Q126X) およびGln141Lys(Q141K)の変異の組み合わせ、100%機能型、75%機能型、50%以下機能型の3群に層化した(Matsuo et al, Sci Transl Med. 2009)。その結果を表2に示す。機能の分布に男女差はなく、また日本人における既存の報告と矛盾しない分布であった。

表 2. ABCG2 遺伝子型による分布

ABCG2の機能	Q126X	Q141K	男性	女性
25%以下	T/T	C/C	1.6%	1.6%
	T/C	C/A		
50%	T/C	C/C	11.6%	13.9%
	C/C	A/A		
75%	C/C	C/A	41.5%	41.9%
100%	C/C	C/C	45.3%	42.6%

(3) ABCG2 遺伝子型による対象者の特性  
ABCG2遺伝子型によりABCG2の機能が低いと考えられた参加者ほど、尿酸の値が高い傾向が認められた。男性ではABCGトランスポーター機能が25%以下では $6.3 \pm 1.1 \text{mg/dL}$ であったのに対し、50%では $6.2 \pm 1.4 \text{mg/dL}$ 、75%では $6.0 \pm 1.4 \text{mg/dL}$ 、100%では $5.8 \pm 1.3 \text{mg/dL}$ を示した。女性でも、ABCGトランスポーター機

能が25%以下では $4.7 \pm 1.2 \text{mg/dL}$ であったのに対し、50%では $4.5 \pm 1.0 \text{mg/dL}$ 、75%では $4.6 \pm 1.0 \text{mg/dL}$ 、100%では $4.4 \pm 1.0 \text{mg/dL}$ を示した。

年齢、BMIをはじめとして、その他の特性については、ABCG2の機能による明らかな違いは認められなかった。

(4) 血清尿酸値とメタボロームの関連

ABCG2と血漿メタボロームの関連を検討する前に、まず血清尿酸値と血漿メタボロームの関連を検討した。男性で29物質、女性で42物質が多変量調整後も有意な関連を示し、尿酸とメタボロームの広範な関係が示唆された。Ser, Gln(男女), Gly, CSSG(男)が負の関連を示す一方、多くの物質は正に関連した。

図1に男性の、図2に女性の、尿酸値と関連する代謝経路を示した。年齢、BMI、飲酒量、喫煙・高血圧・糖尿病・脂質異常症による調整後の標準偏回帰係数に基づいて色分けした。赤は尿酸と正の関連、緑は尿酸と負の関連を示す。無色は有意な関連なし、黒抜きは測定不可の物質を示す。

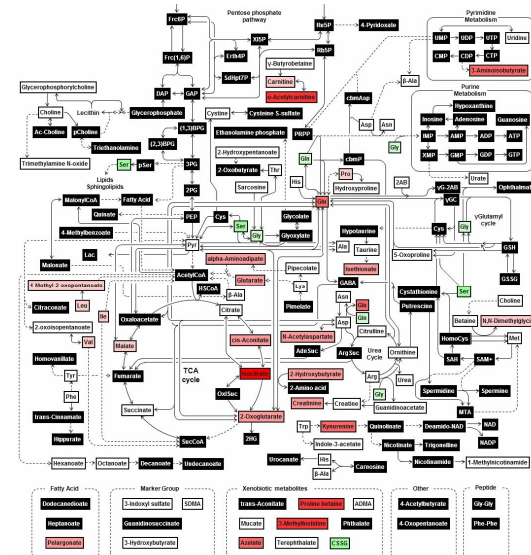


図 1. 男性における尿酸とメタボローム

(5) ABCG2 遺伝子型により尿酸値との関連が異なる物質

ABCG2遺伝子多型による層別解析の結果

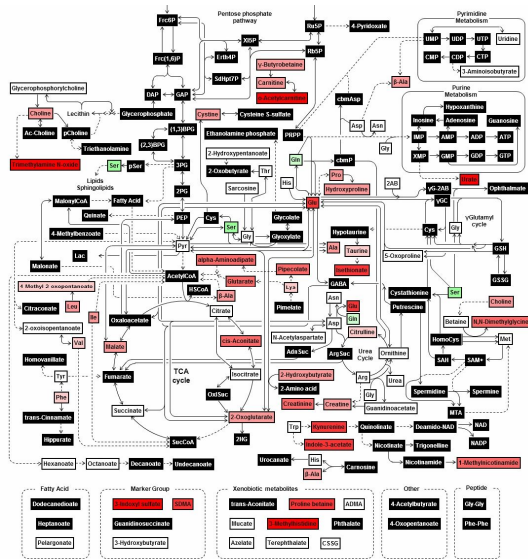


図2. 女性における尿酸とメタボローム

は、全体での解析と概ね同様の結果を示し、代謝経路全体としては、遺伝子型による明らかな差は認められなかったが、一部の代謝物はABCG2の遺伝子多型によって尿酸値との関連が異なる方向を示した。

男性女性のいずれかで、ABCG2遺伝子型により尿酸値との関連が異なった代謝物を表3に示す。特に、ジメチルグリシンは男女共通で、ABCG2遺伝子型により尿酸値との関連が異なる関連が認められた。また、この関連は、ランダムに選定されたバリデーションコホートでも再現された。

高脂血症等による酸化ストレスが、肝臓における尿酸およびジメチルグリシンの蓄積と関連することが、動物実験により指摘されている。ABCG2の機能が低い群における尿酸高値は、体内の病的な変化との関連をより強く示唆する可能性がある。

この結果は、遺伝子多型によって、血漿メタボロームと尿酸値が異なる傾向を示す可能性を示唆しており、今後の追跡調査によって、尿酸に関する遺伝子多型が代謝動態に与える影響がより仔細に明らかになり、オーダーメイド予防医療につながる可能性がある。

表3. ABCG2 遺伝子型により尿酸値との関連が異なる代謝物

男性	<50%	75%	100%
	$\beta(95\%CI)$	$\beta(95\%CI)$	$\beta(95\%CI)$
N,N-Dimethylglycine	-0.04 (-0.1-0.01)	0.03 (0-0.06)	0.06 (0.03-0.09)
Isethionate	-0.01 (-0.1-0.08)	0.03 (-0.01-0.06)	0.05 (0.01-0.09)
Malate	-0.02 (-0.07-0.03)	0.05 (0.02-0.07)	0.03 (0-0.06)
Hexanoate	0.04 (-0.05-0.14)	0.04 (-0.03-0.11)	0.05 (-0.01-0.11)
Pro	0.06 (0.02-0.11)	0.01 (-0.02-0.03)	0.02 (-0.01-0.04)

女性	<50%	75%	100%
	$\beta(95\%CI)$	$\beta(95\%CI)$	$\beta(95\%CI)$
N,N-Dimethylglycine	-0.02 (-0.09-0.05)	0.09 (0.05-0.14)	0.04 (-0.01-0.08)
Isethionate	0.12 (0.04-0.2)	0.06 (0.02-0.1)	0.09 (0.03-0.14)
Malate	0.01 (-0.06-0.09)	0.04 (0-0.08)	0.02 (-0.01-0.06)
Hexanoate	0.09 (-0.04-0.22)	0.02 (-0.03-0.07)	-0.1 (-0.18--0.02)
Pro	-0.01 (-0.06-0.05)	0.04 (0.01-0.08)	0.04 (0.01-0.07)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

1. 原田成 他. 腎機能低下と血漿メタボロームの関連. 第27回疫学会学術総会 2017年1月25-27日 ベルクラシック甲府(山梨県甲府市)
2. 原田成 他. ABCG2 遺伝子多型別にみた尿酸値増加に伴う極性代謝物質のプロファイル変化. 第26回日本疫学会学術総会 2016年1月21-23日 米子コンベンションセンターBigShip(鳥取県米子市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

- 出願状況(計0件)
- 取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

原田 成 (Harada Sei)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号: 10738090