

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21406018

研究課題名（和文）

スリランカにおける慢性腎不全の多発に関する疫学調査および病理学的研究

研究課題名（英文）

Epidemiology and Pathology of Chronic Kidney Diseases of Uncertain Etiology in Sri Lanka

研究代表者

原田 浩二（HARADA KOUJI）

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：80452340

研究成果の概要（和文）：

スリランカでは 1990 年代より、慢性腎臓病が急増してきており、社会問題になっている。スリランカにおける慢性腎臓病の疫学を行い、KDOQI による病期の進展について予後調査を実施した。高血圧の管理により、病期の進行が影響を受けることを明らかにした。遺伝要因の解析では疾患感受性要因をゲノムワイド相関研究により検討した。多発地域において症例、対照者を遺伝子多型のタイピングを行い、関連座位を特定した。

研究成果の概要（英文）：

In Sri Lanka since the 1990s, chronic kidney disease has been increasing rapidly, which has become a social problem. We conducted the epidemiology of chronic kidney disease in Sri Lanka. A study on the progress of stage of disease was investigated. The management of hypertension affected the progression of disease stage. In the analysis of genetic factors genome-wide association study showed disease susceptibility factors. We identified multiple loci related.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2011 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
総計	6,500,000	1,950,000	8,450,000

研究分野：衛生学

科研費の分科・細目：衛生学

キーワード：生活習慣病、慢性腎臓病、疫学、病理学、重金属

1. 研究開始当初の背景

南アジアの島国・スリランカは経済的には発展途上であるものの、貧困層の対策や教育といった社会開発水準が優れており、人間の安全保障が推進されてきた。しかしながら 1990 年代より、セイロン島中東部、中北部および周辺地域において、慢性腎不全が急増してきており、社会問題になって

いる(Athuraliya et al., Research report of Faculty of Medicine, Univ Peradeniya, 2003; Wanigasuriya K.P. et al. Trans R Soc Trop Med Hyg. 101,pp.1013-1017, 2007)。慢性腎不全患者への透析治療はスリランカでは普及しておらず、またその医療コストは高く、医療資源の消費が懸念されるのみならず、患者の生活の質の低下も

甚だしいものである。それゆえこの慢性腎不全の原因の解明は、スリランカ国民への負担の軽減、経済と国民の健康の調和された発展に不可欠なものである。

この慢性腎不全は糖尿病などの疾患を伴わず、中高年に発生している。また地域集積性、家族内で複数例見つかることもあり(Wanigasuriya et al. 2007)、遺伝的素因あるいは家族に共有する要因も強く疑われている。スリランカ国内でも東部の乾燥地域で流行し、これは米作、茶栽培に用いられる農薬、また産業に用いられる重金属類の使用、放出が経済規模の増加に伴い拡大している、さらに反政府活動グループによるエコテロリズムの可能性も含み、多くの可能性が示唆されるが、明らかになっていない。尿細管の間質の障害が見られることから、カドミウムによる汚染も推察されている(Athuraliya et al., 2003)。

このような要因が候補となっているが、原因の特定には至っていない。

2. 研究の目的

環境科学、遺伝学の両面から、慢性腎不全への寄与を推定し、それらの相互作用から近年の急激な患者の増加の原因を検討する。慢性腎不全多発地域において、環境中元素、産業関連重金属、農薬の汚染実態調査を行う。スリランカでは飲料水を複数の水源に頼っており、同一地域でも多様である。また農産物では米を主食としているが、茶、伝統医薬の使用なども重要な曝露経路と考えられる。また家族内での集積性が認められていることから、発生状況を遺伝学的に解析し、遺伝要因の伝達様式、リスクの大きさを明らかにする。さらに環境要因を制御することによる慢性腎不全の予防、進展の阻止の可能性を考察する。また腎不全患者の病理学的所見の集積を行い、発症原因を探索するとともに、未発症の住民についても腎障害の生化学検査を行い、腎症の広がりや腎不全への進行にいたる病態の解明を行う。

3. 研究の方法

流行地域である Uva 地区 Girandurukotte と中北部 Nikawewa、対照地域である中北部 Huruluwewa において現地調査する。流行地域での患者背景、周辺の地質学的特性について情報を得る。農業事務所を通じて、その地域の農作物に関連する農薬について情報を得る。試料として飲料水、陰膳食餌試料、農産物、ハーブなどを採取する。現地病院で慢性腎不全患者の血液、尿検体の収集を行い、既に腎生検を行われている症例の試料を得る。尿検体について、尿タンパク、 $\alpha 1$

-microglobulin、NAG、albumin を測定する。現地調査により収集された試料を分析する。ミネラル、重金属はイオンクロマトグラフィ、ICP 質量分析法により測定する。農薬はガスクロマトグラフィ質量分析法により測定する。水質、農産物で高度に検出された物質について生体試料でも分析を行う。

慢性腎不全患者で見いだした生化学マーカーについて、未発症の住民についてもスクリーニングを実施する。

慢性腎不全患者のクラスタリングが見られることから、慢性腎不全患者の家族内での発症について、aggregation 解析、segregation 解析を行う。

多発地域での患者の組織所見を得る。尿細管障害か糸球体障害かを明らかにする。間質性腎炎と生体試料中金属元素の間に関連が見られるかを検討する。

4. 研究成果

既知の原因を有しない慢性腎臓病患者より尿試料を得て、尿細管障害マーカーである $\alpha 1$ 、 $\beta 2$ マイクログロブリン、NAG を評価したが、ステージ 2 においても上昇は一部患者のみであり、尿細管障害は二次的な可能性があった。そこで病理組織を検討するため、腎生検試料 19 患者より得て、検討を行っている。過去にカドミウムが環境試料中で高値に見いだされると報告されていたため、河川水、飲料水を採取して原子吸光度計にて分析したが、WHO ガイドライン基準値以下であった。また患者尿試料中でも非流行地の対照者群と同程度であり、カドミウムによる腎障害の可能性はきわめて低いと判断した。一方で、流行地域ではフッ素が地質に多く、患者尿中からも高値のフッ素を検出したが、非発症家族からも検出されており、修飾要因である可能性はあるが、他の要因があると考えられた。既知の原因を有しない慢性腎臓病患者より尿試料を得て、カドミウムを評価したが、正常値であったことから、他の腎毒性物質の探索を行った。カビ毒のうちアフラトキシン、フモニシン、オクラトキシンを尿中で評価した。急性毒性を示すほどの高値が示さなかったが、先進国に比べて高値を示した。複数の腎毒性物質の複合曝露の可能性を検討するため、腎生検試料 19 患者より得て、PAS、PAM、Elastica-Masson 染色を行い検討した。糸球体の硬化像が多くの試料で認められたが、組織全体に広がらず、限局したものであった。特に血流量の少ない腎皮膜下に集中した。また間質の線維化が認められる試料もあったが、単核球は認められるが好塩基球などは認められず、直近の感染などの影響より、

長期の慢性炎症が理由と考えられた。そのほか、血管の内膜肥厚が見られた。これらのことから、間質、血管の病変により細い動脈の支配区域の糸球体が硬化している可能性が考えられた。尿タンパク陰性であっても腎障害バイオマーカーが高値である検体も見られ、散発的な障害が長期にわたり慢性腎臓病にいたるプロセスが示唆された。

スリランカにおける慢性腎臓病の疫学を行い、KDOQI による病期の進展について予後調査を実施した。多発地域において、カルテ調査を実施し、後ろ向きコホート研究を行った。高血圧の管理により、病期の進行が影響を受けることを明らかにした。

遺伝要因の解析では疾患感受性要因をゲノムワイド相関研究により検討した。多発地域において症例、対照者を300名募集し、マイクロアレイによる遺伝子多型のタイピングを行い、関連座位を特定した。

このように疾患の基礎的な特徴を明らかにでき、疾患の原因が血管障害であり、血圧の局所的な増加による部分的な糸球体障害から発生することが考えられた。今後、疾患の予後を改善するために、患者の血圧管理を徹底することが有効であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

① Senevirathna STMLD, Abeysekera T, Nanayakkara S, Chandrajith R, Ratnatunga N, Harada KH, Hitomi T, Komiya T, Muso E, Koizumi A, Chronic Kidney Disease of Uncertain Aetiology Consortium
Risk factors associated with disease progression and mortality in chronic kidney disease of uncertain aetiology: a cohort study in Medawachchiya, Sri Lanka: A cohort study
Environ. Health Prev. Med. Accepted 8 Aug, 2011 ; 17(3): 191-198, 2012
doi: 10.1007/s12199-011-0237-7, 査読有り

② Nanayakkara S, Komiya T, Ratnatunga N, Senevirathna STMLD, Harada KH, Hitomi T, Gobe G, Muso E, Abeysekera T, Koizumi A, Chronic Kidney Disease of Uncertain Aetiology Consortium
Tubulointerstitial damage as the major pathological lesions in endemic chronic kidney disease among farmers in North Central Province of Sri Lanka
Environ. Health Prev. Med. Accepted 16 Sept, 2011 ; 17(3): 213-221, 2012

doi: 10.1007/s12199-011-0243-9, 査読有り

③ Nanayakkara S, Senevirathna STMLD, Karunaratne U, Chandrajith R, Harada KH, Hitomi T, Watanabe T, Abeysekera T, Aturaliya TNV, Koizumi A, Chronic Kidney Disease of Uncertain Aetiology Consortium
Evidence of tubular damage in the very early stage of chronic kidney disease of uncertain aetiology in the North Central Province of Sri Lanka: a cross sectional study
Environ. Health Prev. Med. Accepted 30 May, 2011; 17(2): 109-117, 2012
doi: 10.1007/s12199-011-0224-z, 査読有り

④ Desalegn B, Nanayakkara S, Harada KH, Hitomi T, Chandrajith R, Karunaratne U, Abeysekera T, Koizumi A. Mycotoxin Detection in Urine Samples from Patients with Chronic Kidney Disease of Uncertain Etiology in Sri Lanka
Bull. Environ. Contam. Toxicol. Accepted 28 Apr, 87(1): 6-10, 2011
doi: 10.1007/s00128-011-0301-4, 査読有り

⑤ Chandrajith R, Nanayakkara S, Itai K, Aturaliya TNC, Dissanayake CB, Abeysekera T, Harada K, Watanabe T, Koizumi A
Chronic Kidney Diseases of Uncertain Etiology (CKDu) in Sri Lanka: geographic distribution and environmental implications
Environ Geochem Health. Accepted 1 Sept, 2010; 33(3): 267-278, 2011
doi: 10.1007/s10653-010-9339-1, 査読有り

[学会発表] (計5件)

① Senevirathna Lalantha、Shanika Nanayakkara、人見敏明、原田浩二、小泉昭夫
スリランカ乾燥地帯における原因不明の慢性腎臓病(CKDu)の危険因子：地域ベース研究
第82回 日本衛生学会総会2012年3月24-26日 京都大学

② Shanika Nanayakkara、STMLD Senevirathna、人見敏明、原田浩二、小泉昭夫
スリランカ中北部地域における原因不明の慢性腎臓病(CKDu)の全ゲノム相関解析
第82回 日本衛生学会総会2012年3月24-26日 京都大学

③ Senevirathna Lalantha、Biruck Desalegn、Shanika Nanayakkara、原田浩二、人見敏明、小泉昭夫

スリランカの病因不明の慢性腎臓病患者の尿中マイコトキシン

第 81 回 日本衛生学会総会 2011 年 3 月 25-28 日 昭和大学

④ Shanika Nanayakkara、古宮俊幸、原田浩二、人見敏明、武曾恵理、小泉昭夫

スリランカ北中央部における原因不明の慢性腎臓病の腎病理所見

第81回 日本衛生学会総会2011年3月25-28日 昭和大学

⑤ Shanika Nanayakkara、原田浩二、人見敏明、板井一好、和田安彦、渡辺孝男、小泉昭夫

Endemic Chronic Kidney Disease of Unknown Etiology in North Central Region of Sri Lanka is a Disease Induced by Focal Renal Ischemia

第80回 日本衛生学会総会2010年5月9-11日 仙台国際センター

[その他]

ホームページ等

<http://hes.med.kyoto-u.ac.jp/SriLanka/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原田 浩二 (HARADA KOUJI)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：80452340

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

小泉 昭夫 (KOIZUMI AKIO)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：50124574

渡辺 孝男 (WATANABE TAKAO)

東北文教大学・人間科学部・教授

研究者番号：20004608

皆田 睦子 (MINATA MUTSUKO)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：00456857