

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25年5月10日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590667

研究課題名（和文） 痛風発症ならびに尿酸降下薬の薬理効果を規定する分子機構の探索と臨床応用

研究課題名（英文） Research of the molecular mechanism which development of gout and pharmacogenetic effect of urate lowering agents.

研究代表者

浦野 和子 (WAKO URANO)

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：40277140

研究成果の概要（和文）：

痛風患者群、コントロール群を用い、痛風の疾患感受性遺伝子の遺伝子多型を用いた遺伝要因と環境要因を含むモデルによる痛風発症予測の有用性について検討した。*GCKR*、*ABCG2*、*SLC17A1*、*SLC2A9*、*SLC22A12*の遺伝子多型は痛風発症に有意な関連を認めた。遺伝子多型のリスクアレルの総和、Genotype score は痛風群で有意に高値であり、環境要因に Genotype score を加えたモデルでは予測能が向上した。

研究成果の概要（英文）：

Cumulative effect of genetic polymorphisms was investigated using weighted genotype risk score (wGRS) based on the number of risk alleles on polymorphisms in the ten genes, that have been indicated to be associated with SUA. A model to discriminate gout from controls by incorporating wGRS and clinical factors was constructed. C statistics was applied to evaluate the capability of the model to discriminate gout from controls.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般（含心身医学）

キーワード：痛風、高尿酸血症、遺伝子多型、C統計量、遺伝要因、環境要因、相互作用

1. 研究開始当初の背景

高尿酸血症・痛風は高血圧、高脂血症、糖尿病と並ぶ生活習慣病の一つであり、高尿酸血症は虚血性心疾患死亡率に対する独立した危険因子であることが指摘されている

(JAMA 283, 2000) (日本臨床 61, 2003)。従って、血清尿酸値を低下させる治療は腎不全の発症を予防するばかりでなく、虚血性心疾患の発症予防にも寄与することが示唆され、死亡率の低下とQOLの向上を目標とする内科治

療において重要な意義を有している。高尿酸血症の発症メカニズムとして腎臓における尿酸の排泄低下が8-9割を占めている。従って腎臓における尿酸輸送の分子機構を明らかにすることは、高尿酸血症の発症メカニズムを解明し有効な治療法を確立する為に有用であると考えられた。多因子疾患である生活習慣病に関し、欧米においては Gene chip を用いたゲノムワイド解析 (genome-wide association study: GWAS) により 5-30 万の一塩基置換遺伝子多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) から疾患発症に関与する遺伝子多型との関連が見いだされた。高尿酸血症に関しては、欧米のグループから GLUT9 (Li, et al. PLoS genet 3, 2007)、ABCG2 (Dehghan, et al. Lancet 372, 2008)、URAT1 および NPT1 (Kolz, et al. PLoS genet 5, 2009) といった、ヒト腎臓近位尿細管細胞管腔側に発現している尿酸輸送体に翻訳される遺伝子上にある SNP がその発症と関連することが見出された。特に URAT1 (Graessler, et al. Arthritis Rheum 54, 2006) と GLUT9 (Vitart, et al. Nature genet 40, 2008) については高尿酸血症と関連する SNP の risk allele と一般集団における尿酸排泄率 (FEUA) との有意な関連も報告されていることから、これらは腎臓における尿酸輸送における主要な分子であり、かつその遺伝子多型により尿酸排泄量が低下し高尿酸血症の原因となっていることが明らかとなった。以上より、SNP と疾患発症との相関解析を用いることは、痛風発症に関与する Key regulator を同定することにおいて有用であることが示唆される。

2. 研究の目的

- 全ゲノム関連解析により血清尿酸値への影響が報告された遺伝子多型と日本人男性の痛風発症との関連について検討する。
- それらの遺伝子多型の、痛風発症における遺伝子間相互作用について検討する。
- リスクアレルのスコア化による痛風発症予測について検討した。

3. 研究の方法

- 痛風群は男性 153 例、対照群は男性健康者 532 例である。対象として遺伝子 *PDZK1*、*GCKR*、*ABCG2*、*LRRC16A*、*LRP2*、*SLC2A9*、*SLC16A9*、*SLC17A1*、*SLC22A11*、*SLC22A12* において、sUA あるいは痛風発症との関連がすでに報告されている 11 遺伝子多型 *PDZK1* (rs12129861)、*GCKR* (rs780094)、*ABCG2* (rs2231142)、*ABCG2* (rs72552713)、*LRRC16A* (rs742132)、*LRP2* (rs2544390)、*SLC17A1* (rs1165196)、*SLC2A9* (rs1014290)、*SLC16A9* (rs2242206)、*SLC22A11* (rs17300741)、*SLC22A12* (rs17300741) を選択した。TaqMan 法 (Applied

- Biosystems, CA) により遺伝型を決定した。
- 遺伝要因として検討した 11 遺伝子多型について遺伝子間相互作用の有無を検討するためにロジスティック回帰モデルを用い、Model 間の比較を χ^2 乗検定で行い、相互作用があると考えられる遺伝子多型の組み合わせを探索した。
- 痛風発症のリスクアレルをスコア化し、BMI、中性脂肪値 (TG)、eGFR を環境要因とし、遺伝要因および環境要因の関与を検討した。モデル分類性能は C 統計量で評価した。

4. 研究成果

- Bonferroni 法を用いて痛風発症との関連について検討した結果、*GCKR*・*ABCG2*・*SLC17A1*・*SLC2A9*・*SLC22A12* の多型に有意差を認めた。

Table 1. Genotype and allele distribution of SNPs in patients with gout and controls.

SNPs	Genes	Risk Allele	Risk Allele Frequency, %	
			Gout	controls
rs12129861	PDZK1	G	85.9	85.1
rs780094	GCKR	A	63.4	55.6
rs2231142	ABCG2	A	45.4	28.1
rs72552713	ABCG2	T	5.2	2.0
rs742132	LRRC16A	T	74.5	69.2
rs2544390	LRP2	T	57.5	49.9
rs1165196	SLC17A1	T	89.5	82.8
rs1014290	SLC2A9	T	71.9	59.0
rs2242206	SLC16A9	T	59.2	58.4
rs17300741	SLC22A11	G	4.2	3.3
rs121907892	SLC22A12	G	100.0	98.4

SNPs	ORs of gout for	P value	Weights for genotype risk scores
	minor allele (95% CI)		
rs12129861	0.91 (0.63 - 1.30)	0.66	0
rs780094	1.48 (1.15 - 1.91)	1.74×10^{-3}	1
rs2231142	2.16 (1.68 - 2.78)	7.40×10^{-10}	2
rs72552713	0.40 (0.20 - 0.82)	9.49×10^{-3}	2
rs742132	0.73 (0.55 - 0.97)	0.028	1

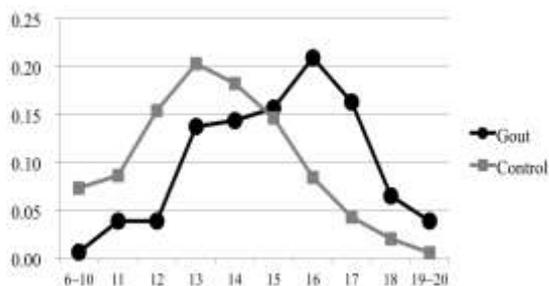
rs2544390	0.76 (0.59 - 0.97)	0.025	1
rs1165196	0.54 (0.36 - 0.79)	1.03 x 10 ⁻³	1
rs1014290	0.60 (0.46 - 0.79)	1.18 x 10 ⁻⁴	1
rs2242206	0.90 (0.70 - 1.16)	0.426	0
rs17300741	0.85 (0.45 - 1.71)	0.622	0
rs121907892	0.02 (0.01 - 0.03)	5.34 x 10 ⁻¹⁴⁸	3

b. 上記 11 遺伝子多型のうち、*ABCG2* (rs72552713)、*SLC22A12* (rs17300741) については頻度が少なく相互作用の検討が出来なかった。残された 9 遺伝子多型のうち単独で痛風発症に有意な関連があった *GCKR*・*ABCG*・*SLC17A1*・*SLC2A9* において、各々の遺伝子の間に相互作用は認められなかった。モデルの比較で $P < 0.1$ を相互作用がある可能性と考え、*SLC16A9/ABCG2* ($P=0.018$)、*SLC16A9/LRP2* ($P=0.063$)、*SLC16A9/GCKR* ($P=0.086$) が抽出された。

SLC16A9/ABCG2 遺伝子間で相互作用ありとした場合 OR は 1.17 であり相互作用がない場合の OR1.811 より低下していたが大きな違いはなかった。一方、*SLC16A/LRP2*、*SLC16A/GCKR* 遺伝子間では相互作用ありとした場合、OR はそれぞれ 2.5 倍、3.5 倍に上昇した。

c. 痛風発症の OR に基づいて夫々のリスクアレルに weight を設定し (Table 1)、weighted genotype risk score (wGRS) を算出した。wGRS は痛風群 14.4 ± 2.2、対群 13.0 ± 2.2 であり、有意に痛風群で高値であった ($P < 0.0001$)。

Figure 1. Distribution of wGRS of patients with gout and controls. (X軸: wGRS, Y軸: 対象者頻度)



wGRS のみのモデルの C 統計量は 0.72 で、モデルに BMI・TG・eGFR を加えると 0.81 であった。

Table 2. C statistic of each model to discriminate gout

	C statistic (95% CI)
model 1; wGRS without adjusted	0.72 (0.68 - 0.76)
model 2; age+BMI	0.69 (0.35 - 0.74)
model 3; age+BMI+TG	0.73 (0.68 - 0.77)
model 4; age+BMI+TG+eGFR	0.73 (0.69 - 0.78)
model 5; age+BMI+TG+eGFR+wGRS	0.81 (0.78 - 0.85)

以上、a~c の結果から、痛風発症あるいは sUA に関連する遺伝子のリスクアレルの集積が痛風発症に関与することが示された。今回検討した遺伝要因と環境要因を含むモデルは、痛風発症予測に関して有用である可能性が示唆された。

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 3 件)

- ① Wako Urano, Atsuo Taniguchi, et al. (他 6 人、1 番目), Impact of genetic polymorphisms on the development of gout. *J Rheumatol*, In press, 2013, 査読有
- ② Wako Urano, Atsuo Taniguchi, et al. (他 6 人、1 番目), Sodium-dependent phosphate cotransporter type 1 sequence polymorphisms in male patients with gout, *Ann Rheu Dis*, 69, 1232-1234, 2010, 査読有
- ③ Wako Urano, Atsuo Taniguchi, et al. (他 6 人、1 番目), *Ann Rheu Dis*, 69, 932-933, 2010, 査読有

[学会発表] (計 5 件)

- ① 浦野和子, 痛風発症に関する遺伝要因の検討～遺伝子相互作用の探索～, 第 56 回日本人類遺伝学会, 2012 年 10 月 24 日, 東京
- ② Wako Urano, A prediction model for gout using genetic polymorphisms of ten loci associated with serum levels of uric acid, 14th International Symposium on Purine and Pyrimidine Metabolism in Man, 2011 年 2 月 19 日, 東京
- ③ 浦野和子, 痛風発症の遺伝要因に関する検討, 第 44 回日本痛風核酸代謝学会, 2011 年 2 月 18 日, 東京
- ④ 浦野和子, 日本人における痛風発症の疾患感受性遺伝子の検討, 第 55 回日本人類

- 遺伝学会, 2011年10月29日, 大宮
- ⑤ 浦野和子, 日本人における ABCG2 および GCKR 遺伝子多型と痛風発症との関連, 第53回人類遺伝学会, 2010年4月23日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浦野 和子 (WAKO URANO)
東京女子医科大学・医学部・助教
研究者番号: 40277140