

機関番号：11101
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2010
 課題番号：19590546
 研究課題名（和文）糖尿病性腎症感受性遺伝子マーカーとしての SLC12A3 遺伝子多型の意義
 研究課題名（英文）Clinical significance of SLC12A3 gene polymorphisms in diabetic nephropathy
 研究代表者
 保嶋 実（YASUJIMA MINORU）
 弘前大学・大学院医学研究科・教授
 研究者番号：90142934

研究成果の概要（和文）：糖尿病性腎症の発症と進展に SLC12A3 の機能変化による NaCl 代謝異常が関与する可能性に着目し、SLC12A3 遺伝子多型の病態的意義について検討した。一般住民における SLC12A3 遺伝子多型頻度が明かとなり、また耐糖能障害と T180K 遺伝子多型に関連が認められたことから、耐糖能障害の抵抗性遺伝子である可能性が示唆された。しかし、糖尿病性腎症と翻訳領域およびプロモーター領域の遺伝子多型に関連を認めなかったことから、SLC12A3 遺伝子多型は糖尿病性腎症の遺伝的マーカーにならないことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：To assess possible roles of disorders of sodium-chloride reabsorption induced by functional changes in SLC12A3 in the pathogenesis and progression of diabetic nephropathy, we studied the association of genetic variations of SLC12A3 with diabetic nephropathy. First of all, we showed the genotypes frequency of SLC12A3 SNPs in a Japanese general population. In addition, the present results suggested that the T180K mutation is associated with impaired glucose tolerance (IGT) and that the T180K mutation may be protected from IGT. However, we did not show that SNPs in the promoter and coding region of the SLC12A3 gene are associated with diabetic nephropathy. Therefore, it is suggested that SNPs of the SLC12A3 gene may not be genetic risk factors for diabetic nephropathy.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：臨床検査医学

科研費の分科・細目：境界医学・病態検査学

キーワード：糖尿病性腎症、遺伝子マーカー、SLC12A3、遺伝子多型、一塩基多型(SNPs)、
 関連解析

1. 研究開始当初の背景

糖尿病性腎症の臨床的な特徴の一つは、1型あるいは2型を問わず糖尿病患者のうち腎症の感受性遺伝的背景をもつ40%程度のみが発症することである。そこで、腎症の発症と進展に関連する遺伝子探索による腎

症危険群の同定による個別的医療の可能性を求めて、腎症感受性遺伝子について研究が進められているが、現在までのところ遺伝子の特定には至っていない

最近、大規模 SNP のゲノムワイド解析で糖尿病腎症の発症と進展に関連する分子とし

て Solute Carrier Family 12 member 3 (SLC12A3) が挙げられている (Tanaka N et al 2003, Kim JH et al 2006)。SLC12A3 遺伝子は腎遠位曲尿細管細胞の管腔側細胞膜に特異的に発現するサイアザイド感受性 NaCl 共輸送体の遺伝子であり、NaCl の再吸収に重要な役割を果たしている。その遺伝子の機能異常により先天性脱水疾患で、低 K 性代謝性アルカローシス、低 Mg 血症および低 Ca 血症を主徴とするギテルマン症候群が発症する。また、SLC12A3 が NaCl 代謝を介した血圧調節において重要な役割を担っていることが明らかとなっていることから、糖尿病性腎症の発症と進展に SLC12A3 の機能変化による NaCl 代謝異常が関与する可能性が考えられる。

2. 研究の目的

糖尿病性腎症の発症と進展に SLC12A3 の機能変化による NaCl 代謝異常が関与する可能性に着目し、SLC12A3 遺伝子多型の病態的意義を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 地域住民の SLC12A3 遺伝子多型頻度の調査として地域健康増進プロジェクトの受診者 1,567 例を対象とし、SLC12A3 遺伝子の翻訳領域の T180K、L849H、R904Q および R919C の 4 種類の遺伝子多型について TaqMan 法で各遺伝子型の判定を行う。さらに耐糖能障害との連関として、対象者を問診票および糖代謝の検査結果より正常血糖群 963 例、境界群 490 例、糖尿病群 114 例に分類し、各遺伝子頻度および対立遺伝子頻度について比較検討する。

(2) 糖尿病性腎症との連関として、糖尿病性腎症 161 例 (腎症群) および糖尿病 114 例 (対照群) を対象とする。SLC12A3 遺伝子の翻訳領域の T180K、L849H、R904Q および R919C の 4 種類の遺伝子多型を TaqMan 法で行い、各遺伝子頻度および対立遺伝子頻度について比較検討する。

(3) 糖尿病腎症とプロモーター領域多型との連関として、糖尿病で腎症を発症した 3 例 (腎症群) と腎症を未発症の 3 例 (対照群) を対象とし、PCR ダイレクトシーケンス法でプロモーター領域の塩基配列をスクリーニングして比較検討する。

(4) (3) で検出したプロモーター領域多型と糖尿病腎症の連関について、糖尿病性腎症 87 例 (腎症群) と糖尿病で腎症未発症の 49 例 (対照群) を対象とし、腎症群をさらに非透析群 (腎症 3 期) 16 例と透析群 71 例に分類して比較検討した。SLC12A3 遺伝子多型解析は、2 種類の多型 (-605C/T および -141G/C) を TaqMan 法で行った。

4. 研究成果

(1) 地域住民 1,567 例における SLC12A3 遺伝子多型解析を TaqMan 法で行った結果、T180K、L849H、R904Q および R919C の変異アリル頻度はそれぞれ 1.3%、1.6%、6.4%、1.9%であった。耐糖能障害との連関では、正常血糖群 963 例、境界群 490 例、糖尿病群 114 例で検討した結果、T180K の変異アリルを有する遺伝子型頻度が正常血糖群に比べ、境界群および糖尿病群で低下していた ($p < 0.05$)。さらに、HbA1C と空腹時血糖値で T180K の変異アリルを有する群が有しない群に比べ低値であった ($p < 0.05$)。T180K の遺伝子多型が耐糖能障害の抵抗性遺伝子である可能性が示唆された。

(2) 糖尿病性腎症との連関では、糖尿病性腎症患者 161 例、糖尿病患者 114 例で検討した結果、糖尿病群と糖尿病性腎症群の両群間に T180K、L849H、R904Q および R919C の 4 種類ともに遺伝子型と対立遺伝子頻度に差異を認めなかった。これらの SLC12A3 遺伝子多型が糖尿病性腎症の遺伝子マーカーになる可能性が少ないことが示唆された。

(3) 糖尿病腎症とプロモーター領域多型との連関では、糖尿病で腎症を発症した 3 例 (腎症群) と腎症を未発症の 3 例 (対照群) について 5 種類の多型 (-2418G/A, -1991C/A, -605C/T, -142C/T および -141G/C) を検出した。-2418G/A では、腎症群でのみ AA 型が 2 例検出された。-142C/T 多型では、対照群は全例 CT 型であり、腎症群では全例 TT 型であった。-141G/C 多型では、対照群は全例 GC 型であり、腎症群では全例 GG 型であった。糖尿病において、SLC12A3 -2418G/A 多型および -142C/T 多型は腎症の感受性遺伝子多型、-141G/C は、腎症の抵抗性遺伝子多型となる可能性が示唆された。

(4) (3) で検出したプロモーター領域多型のうち、TaqMan 法で解析可能であった 2 種類の多型 (-605C/T および -141G/C) と糖尿病性腎症との連関について、糖尿病性腎症 87 例 (腎症群) と糖尿病で腎症未発症の 49 例 (対照群)、腎症群をさらに非透析群 (腎症 3 期) 16 例と透析群 71 例に分類して比較検討した。遺伝子多型解析は、を TaqMan-PCR 法で行った。-605C/T 多型および -141G/C 多型では、腎症群と対照群の両群間の遺伝子型頻度に差異は認めず、対立遺伝子頻度についても両群間に差異を認めなかった。さらに腎症群を非透析群と透析群に分けて比較したが、いずれの多型においても遺伝子型頻度および対立遺伝子頻度に差異を認めなかった。糖尿病性腎症と SLC12A3 遺伝子のプロモーター領域多型に連関を認めなかったことから、それらの多型は糖尿病性腎症の遺伝的マーカーにならないことが示唆され、他の領域での検索がさらに必要と考えられた。

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25件)

- ① Tsutaya S, Sugimoto K, Nakaji S, Yasujima M, Mutational analysis of SLC12A3 gene in a Japanese general population of northern Japan, *Hirosaki Med J*, 62 巻, 2011, 印刷中, 査読有
- ② 保嶋実、蔦谷昭司、サイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体(SLC12A3)遺伝子異常による低 K 血症、*BIO Clinica*、24 巻、927-931、2009 年、査読無
- ③ 保嶋実、蔦谷昭司、地域住民におけるサイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体(SLC12A3)遺伝子変異頻度について—岩木町健康増進プロジェクト、*臨床病理*、57 巻、391-396、2009 年、査読有
- ④ Sugimoto K, Yasujima M, Yagihashi S, Role of advanced glycation end products in diabetic neuropathy, *Curr Pharm Des*, 14 巻、953-961, 2008 年、査読有
- ⑤ 島田美智子、保嶋実、尿細管機能検査および Gitelman 症候群における遺伝子変異解析の有用性について、*臨床化学*、37 巻、29-34、2008 年、査読有
- ⑥ 保嶋実、サイアザイド感受性 NaCl 共輸送体遺伝子解析の臨床的意義、*臨床病理*、55 巻、338-343、2007 年、査読有

[学会発表] (計50件)

- ① Tsutaya S, Sugimoto K, Yasujima M, R904Q variant in the SLC12A3 is associated with bone mineral density in Japanese women, 23th Scientific Meeting International Society of Hypertension, 2010 年 9 月 30 日, Vancouver, Canada,
- ② 蔦谷昭司、杉本一博、保嶋実、糖尿病腎症におけるサイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体(SLC12A3) 遺伝子のプロモーター領域多型の検討、第 57 回日本臨床検査医学会学術集会、2010 年 9 月 11 日、東京都新宿区
- ③ Tsutaya S, Sugimoto K, Yasujima M, T180K variant in the SLC12A3 is associated with impaired glucose tolerance in a Japanese population. The Iwaki Health Promotion Project. World Congress of Nephrology 2009 , 2009 年 5 月 24 日, Milan, Italy
- ④ 蔦谷昭司、小野有希、杉本一博、保嶋実、糖尿病性腎症におけるサイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体 (SLC12A3) の遺伝

子変異に関する検討、第 55 回日本臨床検査医学会学術集会、2008 年 11 月 30 日、愛知県名古屋市

- ⑤ Tsutaya S, Yasujima M, Mutational analysis of SLC12A3 gene in a Japanese population with hypokalemia 22th Scientific Meeting International Society of Hypertension, 2008 年 6 月 19 日, Berlin, Germany
- ⑥ Tsutaya S, Yasujima M, Mutational analysis of SLC12A3 gene in 43 patients with Gitelman's syndrome. 22th Scientific Meeting International Society of Hypertension, 2008 年 6 月 16 日, Berlin, Germany
- ⑦ 蔦谷昭司、小野有希、保嶋実、一般住民におけるサイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体(SLC12A3)の遺伝子変異検出頻度に関する検討、第 54 回日本臨床検査医学会学術集会、2007 年 11 月 24 日、大阪府大阪市

[図書] (計2件)

- ① 庄司優、保嶋実、株式会社日本臨床社、*日本臨床 67 巻増刊号 7 高血圧(下)【高血圧(第 4 版) 日本における最新の研究動向】臨床編 臓器障害進展予測検査の進歩 BNP*、2009 年、187-190
- ② 庄司優、保嶋実、株式会社日本臨床社、*日本臨床 67 巻増刊号 6 高血圧(上)【高血圧(第 4 版) 日本における最新の研究動向】基礎編 循環生理活性物質の最新知見 血管作動性物質 生合成、分泌、生理作用 バソプレシン*、2009 年、212-215

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

保嶋 実 (YASUJIMA MINORU)

弘前大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：90142934

(2) 研究分担者 (2007年度)

庄司 優 (SHOJI MASARU)

明治薬科大学・薬効学・教授

研究者番号：10226300

(3)連携研究者（2008－2010年度）

庄司 優（SHOJI MASARU）

明治薬科大学・薬効学・教授

研究者番号：10226300

(4)研究協力者

葛谷 昭司（TSUTAYA SHOJI）

弘前大学・医学部附属病院・副臨床検査技師長

小山 有希（OYAMA YUUKI）

弘前大学・医学部附属病院・臨床検査技師

中田 良子（NAKATA RYOKO）

弘前大学・医学部附属病院・臨床検査技師

澤田 知香（SAWADA CHIKA）

弘前大学・医学部附属病院・臨床検査技師