

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：82406

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15227

研究課題名(和文) 分子遺伝疫学的解析を活用したヒト腸管上皮における尿酸排泄機構の解

研究課題名(英文) Evaluation of urate excretion mechanism at human intestinal epithelium using molecular genetic epidemiological analysis

研究代表者

松尾 洋孝 (Matsuo, Hirotaka)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究・分子生体制御学・講師)

研究者番号：00528292

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、腸管及び腎臓における尿酸排泄機構の解明のため、多数例の急性腸炎や炎症性腸疾患、および血液透析患者等の症例サンプルと臨床データが収集された。その結果、罹患期の急性腸炎患者において、輸送体ABCG2の機能低下は、急性期の患者の血清尿酸値を有意に上昇させ、これは脱水の重症度を考慮しても有意であった。回復期の患者では有意な上昇を認めなかった。さらに、血液透析患者では輸送体ABCG2の機能低下が血清尿酸値の上昇と有意に関連した。すなわち、どちらの病態でもABCG2遺伝子の機能低下型変異が血清尿酸値の上昇を引き起こしており、血清尿酸値は小腸上皮障害のマーカーとして有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated urate excretion mechanism at human intestine and kidney in the present research. We therefore collected many cases including acute gastroenteritis and inflammatory bowel disease, as well as hemodialysis (end-stage renal disease) patient to compare healthy controls. As results, dysfunction of transporter ABCG2 significantly elevated serum uric acid (SUA) level in acute gastroenteritis patients regardless of the degree of dehydration, which was not detected in their recovery period. Furthermore, ABCG2 dysfunction also significantly increased SUA levels in hemodialysis patients. Thus, urate, which is excreted from both intestine and kidney, is elevated in both acute gastroenteritis and hemodialysis by dysfunctional ABCG2 variants. Also, it was implied that increased SUA could be a useful marker not only for dehydration but also epithelial impairment of intestine.

研究分野：医歯薬学

キーワード：分子遺伝疫学 痛風遺伝子 腸炎 マーカー 尿酸

1. 研究開始当初の背景

体外に排泄される尿酸のうち約3分の2が腎臓から、残り約3分の1のほとんどは腸管から排泄される。研究代表者(松尾)らは、「輸送体機能を指標とした分子遺伝疫学的解析」により *ABCG2* 遺伝子が尿酸排泄輸送体をコードし、痛風・高尿酸血症の主要病因遺伝子であることをこれまでに報告した(Matsuo, et al. *Sci. Transl. Med.* 2009)。さらに、ヒトでは輸送体 *ABCG2* の機能低下が腎臓からの尿酸排泄に影響すること(Ichida, Matsuo, et al. *Nat. Commun.* 2012; Matsuo, et al. *Sci. Rep.* 2014)、また *Abcg2* ノックアウトマウスでは腸管からの尿酸排泄が低下することを発見し報告した(Ichida, Matsuo, et al. *Nat. Commun.* 2012)。

しかし、マウスは尿酸酸化酵素により尿酸を代謝できる一方で、ヒトは偽遺伝子化により尿酸酸化酵素は活性消失しており、尿酸はプリン体の最終代謝産物である。そのため、尿酸の代謝や動態がヒトと動物で異なることから、ノックアウトマウスなどのモデル動物を用いた解析のみでは、ヒトの尿酸排泄機構を解明することは困難であることが多い。さらに、ヒトの腸管へ排泄された尿酸は腸内細菌叢により分類されるため、ヒトにおける直接的な測定は困難であった。すなわち、ヒトの腸管上皮における尿酸排泄機構はいまだ明らかとなっていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、急性腸炎等の消化器疾患を対象とし、*ABCG2* 遺伝子の分子遺伝疫学的解析を実施することにより、「腸管上皮における尿酸排泄機構」を「ヒト」において世界に先駆けて解明することを目指す。

3. 研究の方法

本研究はすべて防衛医科大学校倫理委員会の承認のもと行われた。また、すべての工程はヘルシンキ宣言に従い、インフォームド・コンセントに基づく書面での同意のもとに行われた。

(1) 対象者

本研究において、腎臓と腸管の両方から排泄される尿酸を評価するため、腸管からの尿酸排泄低下が予想される腸炎患者と、腎臓からの尿酸排泄低下(廃絶)が予想される血液透析患者の両方を対象として対比できるようにした。

学外の研究機関との共同研究により、約200例の急性腸炎や炎症性腸疾患等の症例サンプルと臨床データが収集され、解析された。あわせて、血液透析患者約100例のサンプルと臨床データも収集された。さらに、臨床情報が充実している5,000人以上の健康診断受診者の一部を対照群とした。

データクリーニング等の結果、最終的には急性腸炎患者67名(罹患期・回復期の両方

のデータを含む)及び透析患者106名を、さらに性別とBMIを適合させた健常者106名を対象者とした。

急性腸炎患者の脱水の重症度の評価は米国疾病管理予防センター(CDC)の基準に基づき、医師が診断した。

(2) 痛風遺伝子の変異解析と関連解析

対象者の末梢血全血からゲノムDNAが抽出された。これより遺伝子 *ABCG2* の2つの機能低下型変異 Q126X 及び Q141K を検出し、2つの変異から輸送体 *ABCG2* の尿酸排泄機能が推定された。この機能と血清尿酸値(SUA)との関連が解析された。また、小腸上皮が障害されたとき、腸管の輸送体 *ABCG2* による尿酸排泄機能が低下し、高尿酸血症を引き起こすという仮説を立て、急性腸炎患者67人の急性期・回復期それぞれにおける血清尿酸値と *ABCG2* 遺伝子変異との関連も解析した。

4. 研究成果

(1) 腎排泄の廃絶と血清尿酸値の関連

血液透析患者では輸送体 *ABCG2* の機能低下が血清尿酸値の上昇と有意に関連した($P = 1.1 \times 10^{-4}$)が、健常者では有意な関連を認めなかった($P = 0.36$)。腎機能が廃絶している血液透析患者ではほぼ全ての尿酸が腸管から排泄されると考えられ、この結果は *ABCG2* が生理学的にも腸管における尿酸排泄を担うことを示唆する。

(2) 腸管排泄の低下と血清尿酸値の関連

罹患期の急性腸炎患者において、輸送体 *ABCG2* の機能低下は、急性期の患者の血清尿酸値を有意に上昇させ、これは脱水の重症度を考慮しても有意であった($P = 7.8 \times 10^{-3}$)。一方で、回復期の患者ではこのような有意な上昇を認めなかった($P = 0.10$)。

これは、小腸上皮障害が存在すると、輸送体 *ABCG2* による腸管の尿酸排泄機能が低下し、高尿酸血症を引き起こすことを示唆する。

(3) 小腸上皮障害マーカーとしての血清尿酸値

上記(1)及び(2)で示されたように、腎不全または急性腸炎が存在するとき、どちらの病態でも、遺伝子変異による尿酸排泄輸送体 *ABCG2* の機能低下が血清尿酸値の上昇を引き起こすことが明らかとなった(図)。ヒトにおいて、腎臓からの尿酸排泄に加えて腸管上皮からの尿酸排泄が証明されたのは、本研究が初めてである。

従来、急性腸炎などの消化器疾患における高尿酸血症は脱水によるものと考えられてきた。しかし本研究により、小腸上皮障害によって輸送体 *ABCG2* を介した尿酸排泄能が低下することも、血清尿酸値の上昇の原因となることが判明した。さらに、血清尿酸値は急性腸炎などの消化器疾患における小腸上皮障害のマーカーとして有用である可能性が

示唆された。

本研究により、ヒト腸管における生理学的な尿酸排泄機構と病態生理学的メカニズムが判明し、血清尿酸値の測定が高尿酸血症のみならず、急性腸炎などの消化器疾患の診療にも役立つことが期待される。

今後、消化器疾患を対象としたさらなる解析を進めることで、消化器疾患の診断と治療に直接的に役立つ成果が期待できる。

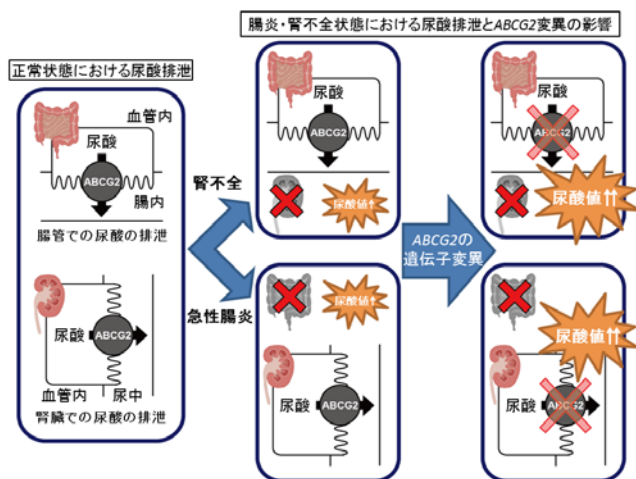


図. 血液透析患者と急性腸炎患者における、*ABCG2* 遺伝子変異の血清尿酸値の上昇に与える影響。腎臓と腸管の両方から排泄される尿酸は、どちらの病態でも *ABCG2* 遺伝子の機能低下型変異は血清尿酸値の上昇を引き起こす。また、本研究により血清尿酸値は急性腸炎などの消化器疾患における小腸上皮障害のマーカーとして有用である可能性が示唆された。

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5件)

- (1) H. Matsuo, T. Tsunoda, K. Ooyama, M. Sakiyama, T. Sogo, T. Takada, A. Nakashima, A. Nakayama, M. Kawaguchi, T. Higashino, K. Wakai, H. Ooyama, R. Hokari, H. Suzuki, K. Ichida, A. Inui, S. Fujimori, N. Shinomiya. Hyperuricemia in acute gastroenteritis is caused by decreased urate excretion via ABCG2. *Sci. Rep.* **6**, 31003 (2016).
- (2) A. Nakayama, H. Nakaoka, K. Yamamoto, M. Sakiyama, A. Shaukat, Y. Toyoda, Y. Okada, Y. Kamatani, T. Nakamura, T. Takada, K. Inoue, T. Yasujima, H. Yuasa, Y. Shirahama, H. Nakashima, S. Shimizu, T. Higashino, Y. Kawamura, H. Ogata, M. Kawaguchi, Y. Ohkawa, I. Danjoh, A. Tokumasu, K. Ooyama, T. Ito,

T. Kondo, K. Wakai, B. Stiburkova, K. Pavelka, L. K. Stamp, N. Dalbeth, Euro gout Consortium, Y. Sakurai, H. Suzuki, M. Hosoyamada, S. Fujimori, T. Yokoo, T. Hosoya, I. Inoue, A. Takahashi, M. Kubo, H. Ooyama, T. Shimizu, K. Ichida, N. Shinomiya, T. R. Merriman, H. Matsuo, GWAS of clinically defined gout and subtypes identifies multiple susceptibility loci that include urate transporter genes. *Ann. Rheum. Dis.* **76**, 869-877 (2017).

- (3) M. Sakiyama, H. Matsuo, H. Nakaoka, K. Yamamoto, A. Nakayama, T. Nakamura, S. Kawai, R. Okada, H. Ooyama, T. Shimizu, N. Shinomiya, Identification of rs671, a common variant of *ALDH2*, as a gout susceptibility locus. *Sci. Rep.* **6**, 25360 (2016).
- (4) H. Ogata, H. Matsuo, M. Sakiyama, T. Higashino, M. Kawaguchi, A. Nakayama, M. Naito, H. Ooyama, K. Ichida, N. Shinomiya, Meta-analysis confirms an association between gout and a common variant of *LRRC16A* locus. *Mod. Rheumatol.* **27**, 553-555 (2017).
- (5) T. Higashino, H. Matsuo, M. Sakiyama, A. Nakayama, T. Nakamura, T. Takada, H. Ogata, Y. Kawamura, M. Kawaguchi, M. Naito, S. Kawai, Y. Takada, H. Ooyama, H. Suzuki, N. Shinomiya, Common variant of PDZ domain containing 1 (*PDZK1*) gene is associated with gout susceptibility: A replication study and meta-analysis in Japanese population. *Drug Metab. Pharmacokinet.* **31**, 464-466 (2016).

[学会発表] (計10件)

- (1) 松尾洋孝, 遺伝子研究から分かってきた高尿酸血症の病態: 消化器の生理学的・病態生理学的役割を含めて. 小児小腸内視鏡検討会. 2016/6/16 (横浜)
- (2) 棚橋勇輝, 松尾洋孝, 崎山真幸, 中岡博史, 山本健, 中山昌喜, 中村好宏, 川合紗世, 岡田理恵子, 大山博司, 清水徹, 四ノ宮成祥, *ALDH2* 遺伝子変異 rs671 は痛風発症リスクを下げる: fine mapping による痛風関連遺伝子の同定. 第27回日本疫学会学術総会. 2017/1/25-27 (山梨)
- (3) 松尾洋孝, 尿酸トランスポーター遺伝子の研究から分かってきた尿酸関連疾患の分子病態と新規臨床分類. 第42回

関東腎研究会. 2016/6/25 (東京)

- (4) 赤司藍理, 松尾洋孝, 富山弘幸, 佐竹涉, 千葉俊周, 尾上祐行, 河村優輔, 中山昌喜, 清水聖子, 崎山真幸, 船山学, 清水徹, 海田賢一, 鎌倉恵子, 戸田達史, 服部信孝, 四ノ宮成洋, 痛風の早期発症に関連する尿酸トランスポーター遺伝子ABCG2の機能低下型変異はパーキンソン病の発症を遅らせる. 第11回トランスポーター研究会年会. 2016/7/2-3 (京都)
- (5) H. Matsuo, Genetics analysis of gout/hyperuricemia. Oriental Gout Symposium. 2016/7/29-31 (青島)
- (6) 赤司藍理, 松尾洋孝, 角田知之, 大山恵子, 崎山真幸, 十河剛, 中山昌喜, 川口真, 東野俊英, 若井建志, 大山博司, 穂苺量太, 乾あやの, 四ノ宮成祥, 分子遺伝疫学解析によるヒト腸管からの尿酸排泄の証明:尿酸値は小腸上皮障害のマーカーとなる. 第27回日本疫学会学術総会. 2017/1/25-27 (山梨)
- (7) 松尾洋孝, 大山恵子, 崎山真幸, 高田龍平, 中山昌喜, 川口真, 東野俊英, 大山博司, 市田公美, 藤森新, 四ノ宮成祥, 尿酸トランスポーターABCG2を介したヒト腸管からの尿酸排泄の証明:小腸上皮障害のマーカーとしての血清尿酸値の重要性. 第50回日本痛風・核酸代謝学会総会. 2017/2/16-17 (東京)
- (8) 崎山真幸, 松尾洋孝, 清水聖子, 中山昌喜, 東野俊英, 高田龍平, 市田公美, 大山博司, 清水徹, 四ノ宮成祥, *URAT1/SLC22A12* 遺伝子の機能消失型変異が血清尿酸値および痛風・高尿酸血症の発症に与える影響. 第50回日本痛風・核酸代謝学会総会. 2017/2/16-17 (東京)
- (9) 中山昌喜, 松尾洋孝, 崎山真幸, 高田龍平, 清水聖子, 東野俊英, 河村優輔, 川口真, 徳増淳美, 大山恵子, 細山田真, 藤森新, 横尾隆, 細谷龍男, 大山博司, 清水徹, 市田公美, 四ノ宮成祥, 痛風のゲノムワイド関連解析:新規遺伝座を含めた10個の痛風関連遺伝子座の同定. 第50回日本痛風・核酸代謝学会総会. 2017/2/16-17 (東京)
- (10) H. Matsuo, Genetics of gout/hyperuricemia: Recent progress from Japan. European Crystal Network workshop 2017. 2017/3/2-3 (Paris)
- (11) 松尾洋孝, 角田知之, 大山恵子, 崎山

真幸, 十河剛, 中山昌喜, 川口真, 赤司藍理, 小松真子, 東野俊英, 若井建志, 大山博司, 市田公美, 乾あやの, 四ノ宮成祥, ヒト腸管からの生理学的な尿酸排泄機構の証明:尿酸値は小腸上皮障害のマーカーとなる. 第94回日本生理学会大会. 2017/3/28-30 (静岡)

[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]

防衛医科大学校分子生体制御学講座:
<http://ndmc-ipb.browse.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松尾 洋孝 (MATSUO HIROTAKA)

防衛医科大学校 医学教育部医学科専門課程・講師

研究者番号: 00528292

(2) 研究分担者

山本 健 (YAMAMOTO KEN)

久留米大学 医学部・教授

研究者番号: 60274528