

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 15 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08975

研究課題名(和文)慢性腎臓病の合併症進展機構に関わるエピゲノム異常の解析

研究課題名(英文) Impact of epigenetic changes on complication of chronic kidney disease

研究代表者

本田 浩一 (Honda, Hiromasa)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：70297000

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、慢性腎臓病(CKD)に高頻度に合併する心血管病や栄養障害などの発症・進展と標的となるDNAの後成的変化との関係を基礎的および分子疫学的に検証することであった。解析の結果、保存期CKD患者、透析患者ともに抗加齢因子(Klotho、Sirtuin1遺伝子)の後成的遺伝子変性が増加し、心血管病患者ではKlotho遺伝子のメチル化の頻度が高い傾向にあった。透析患者では約70%の患者でKlothoとSirtuin1遺伝子のメチル化を認めており、特にKlotho遺伝子のメチル化を有する透析患者では、心血管病の罹患率が高く、栄養障害のマーカーが有意に低下していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病(CKD)は慢性炎症・酸化ストレスを呈することが多く、心血管病や栄養障害の合併頻度が高い。本研究では慢性炎症・酸化ストレス環境での抗加齢因子の後成的遺伝子変化に焦点を当て、心血管病や栄養障害との関係を探索することである。本研究結果からCKD患者では抗加齢因子の後成的変化が心血管病や栄養障害の発症と関係する可能性が考えられ、それらの合併症に対するDNAメチル化診断が可能となる。また、DNAの後成的変化は可逆的であるため、新規治療戦略へ展開が可能となる。その結果、予防医療や在宅医療の推進などの医療費の削減につながる研究成果と考える。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to assess impact of epigenetic changes on complication, cardiovascular disease (CVD) and malnutrition, of chronic kidney disease. Prevalence of epigenetic changes of klotho and sirtuin 1 promoter gene methylation were increased in both CKD stage 4-5 and hemodialysis patients and tended to be increased in non-CKD patients with CVD. In dialysis patients, klotho promoter gene methylation was associated with high prevalence of CVD history and low score of geriatric nutritional risk index.

研究分野：慢性腎臓病の合併症

キーワード：エピジェネティクス 慢性腎臓病 心血管病 栄養障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病 (CKD) 患者は高頻度に心血管病や栄養障害などの合併症を発症する。CKD 患者の合併症の発症・進展の病態には慢性炎症・酸化ストレスが密接に関係し、動脈硬化病変の発症・進展機構や骨格筋の合成障害・カタボリズム、造血障害・鉄代謝異常や腎障害の進展に影響する。一方、動脈硬化や栄養障害、貧血の発症・進展の病態には、細胞寿命や長寿に関連する抗加齢因子の異常が関係することが報告されているが、抗加齢因子の異常は CKD 患者でも認められており、CKD 患者の合併症や予後に慢性炎症・酸化ストレスと相乗して関係することが推測される。

2. 研究の目的

最近、特定の遺伝子の後成的遺伝子変性 (DNA メチル化) が糖尿病や高血圧症、動脈硬化の発症・進行に関係することが報告され、CKD 患者においても慢性炎症の原因や動脈硬化病変の進展、腎障害の進展に DNA メチル化が関係することが報告されている。DNA メチル化は慢性炎症・酸化ストレス環境で生じ易いが、CKD 患者は尿毒症から慢性炎症・酸化ストレスが亢進している。また、尿毒素は DNA メチルトランスフェラーゼ (DNMT) の発現を亢進させて、DNA メチル化を促進させることが報告された。つまり、CKD 患者では DNA 変性が生じやすい環境にある。その結果、抗加齢に関連する遺伝子群の DNA プロモーター領域の後成的変性が促進され、慢性炎症・酸化ストレスと抗加齢関連因子の異常が独立して、あるいは相乗して合併症を発症・進展させるという仮説が考えられる。本研究では、CKD に高頻度に合併する心血管病や栄養障害などの発症・進展と標的となる DNA、特に長寿に関連する抗加齢因子の後成的変性との関係を検証することである。

3. 研究の方法

保存期 CKD 患者、透析患者から白血球を採取し DNA を抽出後、標的遺伝子群の DNA メチル化を解析する。原疾患や合併症、腎障害の程度、透析期間などと DNA 変性頻度の関係について腎機能正常者と比較し、検討する。また、各標的因子の血中蛋白量の測定を行う。次に長期経過を観察し、主要アウトカム (全死亡と致死性的および非致死性的 CVD イベント) および副次アウトカム (経年的な栄養状態の変化、貧血・鉄代謝の変化) の評価を行う。

4. 研究成果

現在、透析患者 113 例、保存期 CKD 患者 42 例、腎機能が正常な心血管病患者 40 名においてにおいて抗加齢因子である Klotho ならびに Sirtuin1 遺伝子の後成的変化を検討している。透析患者では約 70% の患者で Klotho と Sirtuin1 遺伝子のメチル化を認め (図 1) 各遺伝子のメチル化群では血清 Klotho 値や Sirtuin1 値が低下していることを確認している。

図 1 .Klotho 遺伝子 プロモーター領域のメチル化



特に Klotho 遺伝子のメチル化を有する患者は、心血管病の罹患率が高く、(約 75%) 栄養障害のマーカーである geriatric nutritional risk index(GNRI)が有意に低下していた。心血管病の合併率や GNRI の低下は、多変量解析で心血管病や栄養障害に関連する因子で調整しても Klotho 遺伝子のメチル化が独立したリスクあった(表 1)。

表 1 .Klotho 遺伝子 プロモーター領域のメチル化と心血管病罹患、栄養障害の関係

	Model 1 CVD history		Model 2 GNRI	
	Odds (95% interval)	P value	Beta, SE	P value
Age (years)	1.04 (0.99, 1.09)	0.08	-0.19, 0.05	<0.0001
Diabetes mellitus, yes	3.03 (1.14, 8.96)	0.02	1.11, 0.55	0.05
Klotho promoter gene methylation (-)	Ref.		Ref.	-
Klotho promoter gene methylation (+)	2.97 (1.05, 9.24)	0.04	-1.19, 0.59	0.04

これらのことから CKD 患者、特に末期腎不全患者では健常人に比べて慢性炎症関連遺伝子や抗加齢因子関連遺伝子の後成的変化の頻度が増加すると考えられ、標的遺伝子の DNA 変性は同患者の栄養障害の発症・進展と関係があることが推測された。

DNA メチル化と長期予後については、DNA メチル化変性がある群で心血管病イベント数が多く、入院率が高い傾向にあった。現在、解析症例数を増やし検討を進めている。これらの研究成果の一部は日本腎臓学会や国際学会(米国腎臓学会、欧州腎臓学会)で報告し、論文化を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 本田浩一、保坂望、小林靖奈、上竹大二郎、有賀誠記、柴田孝則	4. 巻 33
2. 論文標題 血液透析患者におけるKlotho遺伝子のメチル化編成と心血管病、栄養障害との関係	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本透析医会雑誌	6. 最初と最後の頁 325, 327
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hirokazu Honda, Yasuna Kobayashi, Seiki Aruga, Daijiro Uetake, Takanori Shibata
2. 発表標題 DNA methylation of Klotho promotor gene is associated with prevalence of cardiovascular disease in patients under hemodialysis
3. 学会等名 ERA-EDTA
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hirokazu Honda, Yasuna Kobayashi, Seiki Aruga, Daijiro Uetake, Takanori Shibata
2. 発表標題 DNA methylation of Klotho promotor gene is associated with cardiovascular disease and malnutrition in patients under hemodialysis
3. 学会等名 米国腎臓学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 本田浩一、小林靖奈、有賀誠記、上竹大二郎、柴田孝則
2. 発表標題 血液透析患者における後天的Klotho遺伝子変性について
3. 学会等名 日本腎臓学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	小林 靖奈 (Kobayashi Yasuna) (20276611)	新潟薬科大学・薬学部・教授 (33101)	