

## 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 6 月 7 日現在

機関番号：82406

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2010～2012

課題番号：22689021

研究課題名（和文）

大規模分子遺伝疫学的解析による痛風発症リスクの個人差評価法及び早期予防法の開発

研究課題名（英文） Genome tailor-made evaluation of gout risk by molecular epidemiologic analysis toward early prevention of gout.

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

研究成果の概要（和文）：

本研究では、多数例の痛風症例、健康診断受検者のサンプルのゲノムサンプルと臨床データを収集した。痛風・高尿酸血症の症例（644例）を対象にした解析により、高尿酸血症の機序は、多くの場合で、腎外排泄低下（腸管からの尿酸排泄低下）が原因となっていたことが分かった。

（Nature Communications, 2012）さらに、「ゲノム支援班」活動による支援をうけて痛風のゲノムワイド関連解析を実施して、痛風の新規遺伝子が同定されつつある。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we collected genome samples and clinical information from gout/hyperuricemia cases and controls. As a case only study, we genotyped 644 hyperuricemia patients for ABCG2 dysfunctional variants, which revealed that “decrease of extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia” (Nature Communications, 2012). In addition, a genome wide association study of gout is also ongoing with the support of the Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas “Genome Sciences”. So far, we obtained several positive data by preliminary analysis, and we convince ourselves that we will report on the important gout susceptible genes soon.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,400,000	0	6,400,000
2011年度	6,300,000	0	6,300,000
2012年度	5,600,000	0	5,600,000
総計	18,300,000	0	18,300,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：(1) 分子遺伝疫学(2) 予防医学 (3) 個人差医療 (4) 尿酸 (5) 遺伝統計学 (6) 個人差医療に基づく予防医学

## 1. 研究開始当初の背景

- (1) 痛風は、高尿酸血症に引き続いておこる生活習慣病で、激痛を伴う関節痛を生じるほか、高血圧、腎臓病、心臓

病、脳卒中などのリスクとなることが知られている。生活習慣の欧米化および高齢化に伴い患者の頻度が増加しており、食生活を含む生活習慣や遺伝

的要因の関与が考えられていた。しかし、非常に稀な先天性尿酸代謝異常による痛風以外は、大部分の痛風の原因は不明なままであった。我々は、防衛医大、東大、東京薬科大、慈恵医大、名古屋大を含む 11 大学・機関の研究者と共同研究チームの代表として、「トランスポーターの分子機能を指標とした大規模な遺伝子解析」を行い、尿酸排泄トランスポーター遺伝子 ABCG2 が、痛風の主要な病因遺伝子であることを世界に先駆けて発見した。

- (2) これまでにわかっていたヒトの尿酸トランスポーターは我々が報告した URAT1 (*Nature*, 2002) と GLUT9 (*Am J Hum Genet*, 2008) の 2 つのみで、共にヒトの腎臓における尿酸再吸収トランスポーターであることも我々が報告していた。ヒトにおいて尿酸は、3 分の 2 が腎臓から尿中へ、残りの 3 分の 1 は主に腸管から大便中へ排泄されることが知られていた。3 つ目の尿酸トランスポーターである ABCG2 は、腎臓や腸管に発現していることから、これらの臓器から体の外への尿酸排泄に関わるトランスポーターであることが示唆され、これによりヒトにおける尿酸排泄と再吸収の分子機構モデルの提唱が可能となった。さらに、ABCG2 遺伝子のありふれた遺伝子変異パターンの個人差が、血液中の尿酸値の個人差および痛風発症リスクの個人差につながるということがわかった。本研究は、ありふれた生活習慣病の 1 つである痛風において、主要な病因遺伝子を初めて発見するとともに、その病態解明のための重要な証拠を見いだし、新たな視点からの予防法や治療薬の開発につながることを大いに期待される。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は「大規模遺伝子解析のための研究リソースを構築し、痛風遺伝子 ABCG2 の変異による発症リスクの個人差評価法を確立すること」である。さらに、「痛風の新規の主要病因遺伝子を同定し、これらの痛風遺伝子を活用した痛風の早期予防法を開発すること」である。

## 3. 研究の方法

本研究では以下の (1) から (5) の観点から計画を立てて研究を実施する。

- (1) 大規模遺伝子解析に適した検体収集による研究リソースの構築
  - ① 健康診断サンプル、計 5,000 例のゲ

ノム DNA 及び 600 例のリンパ球由来 RNA を抽出し、多岐にわたる健康診断の臨床データを整理・解析する。

- ② 痛風症例、計 600 例のゲノム DNA 及び 500 例のリンパ球由来 RNA を抽出し、詳細な臨床データの整理・解析を実施する。
- (2) 痛風遺伝子 ABCG2 の頻度の高い病因変異 (個人差) の評価
    - ① 大規模の健診サンプル (5,000 例) における頻度を正確に評価し、ハプロタイプ頻度解析により各リスクアレルの独立性と頻度を検討する。
    - ② 多数例の痛風症例 (600 例) における頻度とリスクを正確に評価し、これまで不明であった発症年齢に与える影響について評価する。
  - (3) 痛風遺伝子 ABCG2 の稀な病因変異 (個人差) の評価  
ABCG2 の全コーディング領域について、数百例程度の痛風症例を対象とした re-sequencing (ゲノム DNA 及び必要に応じて cDNA を使用) を実施し、さらに尿酸輸送の変化を機能解析により検討して、機能消失型変異候補をくまなく同定する。これらの変異を 5,000 人のサンプルのうち、尿酸値の正常な男性を対象としてタイピングを行い、機能消失型変異全て (common variant と rare variant 全て) を勘案した詳細な発症リスクの個人差評価法を確立する。
  - (4) 痛風の新規の主要病因遺伝子の同定
    - ① 上記の (2)、(3) の実験を含む「分子機能を指標とした遺伝学的解析」を、別の候補トランスポーター遺伝子 SLC17A3、OAT4 などについても適用して、新規の痛風遺伝子や痛風関連遺伝子を同定する。
    - ② 痛風の病因となる SNP 以外の個人差の同定のために、症例及び健診サンプルの cDNA を用いた発現量解析 (Taqman PCR)、copy number variant (CNV) の解析を実施して、疾患特異的な変化を検討する。
  - (5) 痛風発症リスク情報と分子病態解明に基づく痛風の早期予防法の開発  
同定された痛風遺伝子の分子機能データと大規模遺伝子解析の結果に基づき、解析した尿酸トランスポーターの生理学的機能と痛風における分子病態を明

らかにする。この上で、個人差情報を活用して、高リスクグループに対する早期予防や高尿酸血症時の早期治療による「個人差に基づく痛風の予防法」を提案する。

#### 4. 研究成果

- (1) 大規模遺伝子解析に適した検体収集による研究リソースの構築：痛風症例（計 1,500 例）、健康診断サンプル（計 5,000 例）についてのゲノムサンプルの収集と臨床データの整理を実施した。
- (2) ABCG2 の個人差の評価：痛風・高尿酸血症の症例（644 例）を対象に、ABCG2 の 2 つの機能低下型多型(Q126X, Q141K) についてタイピングを実施し評価した。これらの知見に基づき、これまで尿酸排泄過によると考えられてきた高尿酸血症の機序は、多くの場合で、腎外排泄低下（腸管からの尿酸排泄低下）が原因となっていたことが分かった。Common disease の 1 つである高尿酸血症の新規発症機序が ABCG2 遺伝子の個人差を詳しく解析することにより解明でき、高尿酸血症の診断、予防や治療を考慮していく上でも重要な知見となった。（Ichida K, Matsuo H, Takada T, et al. Nature Communications, 3: 764, 2012）
- (3) 痛風の新規の主要病因遺伝子の同定：別の候補トランスポーター遺伝子を対象とした遺伝学的解析については、新たな尿酸トランスポーター候補分子の解析が進行中である。さらに、23 年度からは、「ゲノム支援班」活動による支援をうけて痛風のゲノムワイド関連解析を開始しており、現時点までの data においても痛風の病因遺伝子について有望な結果が得られており、痛風の新規遺伝子が同定されつつある。これらの成果により、本研究の目的である、1) 痛風遺伝子 ABCG2 の変異による発症リスクの個人差評価法を確立すること、さらに、2) 痛風の新規の主要病因遺伝子を同定し、これらの痛風遺伝子を活用した痛風の早期予防法を開発すること」の達成にむけて順調に研究が進展した。

#### 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 7 件）

- (1) Ichida K, Matsuo H 他、Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia、Nat Commun、査読有、Vol.3、2012、764

- (2) Takeuchi S 他、L:-Leucine induces growth arrest and persistent ERK activation in glioma cells、Amino Acids、査読有、Vol.43、No.2、2012、717-724
- (3) Kawamura Y, Matsuo H 他 Pathogenic GLUT9 Mutations Causing Renal Hypouricemia Type 2 (RHUC2). Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids、査読有、Vol. 30、No. 12、2011、1105-1111
- (4) Nakayama A, Matsuo H 他、 ABCG2 is a high-capacity urate transporter and its genetic impairment increases serum uric acid levels in humans. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.、査読有、Vol.30、No.12:、2011、1091-1097
- (5) Matsuo H 他、 Identification of ABCG2 dysfunction as a major factor contributing to gout. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids、査読有、Vol.30、No.12、2011、1098-1104
- (6) Matsuo H 他、 ABCG2/BCRP dysfunction as a major cause of gout. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids、査読有、Vol. 30、No. 12、2011、1117-1128
- (7) Hamajima N 他、 Significant association of serum uric acid levels with SLC2A9 rs11722228 among a Japanese population. Mol Genet Metab. 査読有、Vol.103、No.4、2011、 378-382

〔学会発表〕（計 70 件）

- (1) 市田公美、松尾洋孝他、尿酸の腸管排泄低下は高尿酸血症の主要な新規機序である、日本消化器学会第 99 回総会、2013. 3. 21. -2013. 3. 23、鹿児島
- (2) 松尾洋孝他、 Decreased urate excretion from intestine is a common cause of hyperuricemia. 腸管における尿酸排泄の低下は高尿酸血症の新規機序である、第 90 回日本生理学会大会、2013. 3. 27~2013. 3. 29、東京、学会賞受賞
- (3) 松尾洋孝他、ABCG2 の機能低下による腎外の尿酸排泄低下：高尿酸血症の症例解析と動物モデル解析、第 46 回日本痛風・核酸代謝学会総会、2013. 2. 14-2013. 2. 15、東京

- (4) 中山昌喜、松尾洋孝他、腎性低尿酸血症の実態把握調査について(第1報). 第46回日本痛風・核酸代謝学会総会、2013.2.14-2013.2.15、東京
- (5) 高田雄三、松尾洋孝他、ABCG2遺伝子タイピングに基づく高尿酸血症における新規病型分類の提唱、第23回生物試料分析科学学会年次集会、2013.2.10.~2013.2.11、大阪
- (6) 松尾洋孝他、痛風病因遺伝子ABCG2の解析による高尿酸血症の新規病態の解明、第23回日本疫学会、2013.1.24-2013.1.26、大阪
- (7) 15. 中山昌喜、松尾洋孝、高田雄三、中島宏、佐藤弘樹、中村好宏、森厚嘉、内藤真理子、菱田朝陽、若井建志、清水聖子、及川雄二、丹羽和紀、櫻井裕、市田公美、浜島信之、四ノ宮成祥：痛風病因遺伝子ABCG2の変異が血清尿酸値におよぼす影響。第23回日本疫学会、大阪、2013.1.24-2013.1.26.
- (8) 高田雄三、松尾洋孝他、全自動SNPタイピング装置を利用した痛風の遺伝子タイピング、日本DNA多型学会第21回学術集会、2012.11.7-2012.11.9、京都
- (9) Matsuo H 他、Common dysfunctional variants of ABCG2 decrease extra-renal urate excretion and cause hyperuricemia、2012 American Society of Human Genetics 62nd Annual Meeting、2012.11.6-2012.11.10、San Francisco, USA
- (10) 松尾洋孝他、ABCG2 遺伝子変異に基づく高尿酸血症の病態解明と新規病型分類、日本人類遺伝学会第57回大会、2012.10.25-2012.10.27、東京
- (11) 中山昌喜、松尾洋孝他、ABCG2 機能低下による「腎外排泄低下型」高尿酸血症、日本薬理学会関東部会、2012.10.20-2012.10.27、東京
- (12) Matsuo H 他、Genetic analysis of paroxysmal dystonic choreoathetosis (PDC/PNKD); Patient and hamster model study, the 16th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Dublin, Ireland, 2012.6.17-2012.6.21.
- (13) 内海由貴、松尾洋孝他、高尿酸血症の新たな発症機序の解明：ABCG2 の機能低下による腸管からの尿酸排泄低下。第7回日本トランスポーター研究会年会、京都、2012.6.9-2012.6.10.
- (14) 高田龍平、市田公美、松尾洋孝他、ABCG2/BCRP による腸管への尿酸排泄の低下は腎外排泄低下型高尿酸血症を引き起こす。日本薬剤学会第25年会、神戸、2012.5.24-2012.5.26.
- (15) Kimiyoshi Ichida, Hiroataka Matsuo 他、Influence of ABCG2 dysfunction on uric acid excretion pathways. European Human Genetics Conference 2012, Nurnberg, Germany 2012.6.23-2012.6.26
- (16) 高田雄三、松尾洋孝他、痛風リスク遺伝子検査法の確立。第22回生物試料分析科学学会年次学術集会、福岡、2012.3.10-2012.3.11.
- (17) Matsuo H 他、Genotyping ABCG2 to estimate gout risk- for practical use in the clinical setting. 4th Federation of European Biochemical Societies (FEBS) special meeting on ATP-Binding Cassette (ABC) Proteins (ABC2012), Innsbruck, Austria, 2012.3.3-2012.3.9.
- (18) 高田雄三、松尾洋孝他、実用化に向けた痛風リスク遺伝子タイピング。第9回臨床福祉研究学術集会、東京、2012.2.25-2012.2.26.
- (19) 中山昌喜、松尾洋孝他、生薬からの尿酸トランスポーターURAT1 阻害物質の探索。日本生薬学会第59回年会、千葉、2012.9.17.-18.
- (20) 佐々木裕明、高田雄三、松尾洋孝他、痛風遺伝子ABCG2の迅速診断法の確立。第57回防衛衛生学会、東京、2012.2.2.
- (21) 中山昌喜、松尾洋孝他、痛風病因遺伝子ABCG2の変異と血清尿酸値との関連。第22回日本疫学会学術総会、東京、2012.1.26-2012.1.28.
- (22) 高田雄三、松尾洋孝他、High Resolution Melting法によるABCG2遺伝子のSNPタイピング。日本DNA多型学会

第 20 回 学 術 集 会 ， 横 浜 ，  
2011. 12. 1-2011. 12. 2.

- (23) 松尾洋孝、痛風・高尿酸血症の主要  
病因遺伝子の同定と病態の解明. 東京  
大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科リ  
サーチカンファレンス, 東京,  
2011. 11. 29.
- (24) Matsuo H 他、Gout is caused by  
common dysfunctional variants of  
ABCG2/BCRP. BioMedical Transporters  
2011, Grindelwald, Switzerland,  
2011. 8. 7-2011. 8. 11.
- (25) 松尾洋孝、尿酸排泄トランスポー  
ターABCG2/BCRP: 痛風の主要病因と個人  
裁量の展望. 金沢大学薬学シンポジウ  
ム 2011 -創薬動態フォーラム in 金沢,  
金沢, 2011. 7. 29.
- (26) 松尾洋孝、痛風の主要病因遺伝子  
ABCG2/BCRP の解明とオーダーメイド医  
療の可能性. 流山市医師会学術講演会,  
流山, 2011. 6. 15.
- (27) Matsuo H 他、ABCG2 is a major  
causative gene for gout. The 1st  
Symposium of Asia Pacific League of  
Associations for Rheumatology (APLAR),  
Taipei, Taiwan, 2011. 4. 15-2011. 4. 17.  
【Young Investigator Award 受賞】
- (28) Kawamura Y, Matsuo H 他、  
Pathogenic GLUT9 mutations in renal  
hypouricemia type 2. Gordon Research  
Conferences on Membrane Transport  
Proteins, Biddeford, ME, USA,  
2010. 8. 15-2010. 8. 20.
- (29) Nakayama A, Matsuo H 他、  
ABCG2/BCRP is a high-capacity urate  
transporter and its common variant  
increases serum uric acid levels in  
humans. Gordon Research Conference on  
Membrane Transport Proteins,  
Biddeford, ME, USA,  
2010. 8. 15-2010. 8. 20.
- (30) Matsuo H 他、Common variants of  
ABCG2/BCRP cause gout. Gordon  
Research Conference on Membrane  
Transport Proteins, Biddeford, ME,  
USA, 2010. 8. 15-2010. 8. 20.
- (31) Inoue H, Matsuo H 他、ABCG2/BCRP  
encodes a high-capacity urate

transporter and its common variant  
increases serum uric acid levels in  
humans. American Society of Human  
Genetics Annual Meeting, Washington  
DC, USA, 2010. 11. 2-2010. 11. 6.

- (32) Matsuo H 他、ABCG2/BCRP as a major  
causative gene for gout. 2010 American  
Society of Human Genetics Annual  
Meeting, Washington DC, USA,  
2010. 11. 2-2010. 11. 6.
- (33) Matsuo H 他、ABCG2/BCRP  
dysfunction as a major cause for gout.  
14th International Symposium on  
Purine and Pyrimidine Metabolism in  
Man, PP11, Tokyo, 2011. 2. 18-2011. 2. 21.
- (34) Kawamura Y, Matsuo H 他、  
Pathogenic GLUT9 mutations causing  
renal hypouricemia type 2 (RHUC2).  
14th International Symposium on  
Purine and Pyrimidine Metabolism in  
Man, PP11, Tokyo, 2011. 2. 18-2011. 2. 21.
- (35) Nakayama A, Matsuo H 他、ABCG2 is  
a high-capacity urate transporter and  
its genetic impairment increase serum  
uric acid levels in humans. 14th  
International Symposium on Purine and  
Pyrimidine Metabolism in Man, PP11,  
Tokyo, 2011. 2. 18-2011. 2. 21. 【国際学  
会賞・受賞】
- (36) Matsuo H 他、Identification of  
ABCG2 dysfunction as a major cause for  
gout. 14th International Symposium on  
Purine and Pyrimidine Metabolism in  
Man, PP11, Tokyo, 2011. 2. 18-2011. 2. 21.
- (37) 松尾洋孝、痛風原因遺伝子の解明.  
第 1 回 佐賀尿酸研究会, 佐賀,  
2010. 4. 1.
- (38) 松尾洋孝、痛風遺伝子の解明とオ  
ーダーメイド医療の可能性～生活習慣  
病で初の主要病因遺伝子～. 第 1 回 所  
沢生活習慣病研究会, 川越, 2010. 5. 17.
- (39) 松尾洋孝他、シンポジウム; トラ  
ンスポーター研究から生活習慣病克服  
を目指す, 生活習慣病発症に関わる尿  
酸トランスポーター～ゲノムワイド解  
析後の新展開～. 第 64 回日本栄養・食  
糧学会大会, 徳島, 2010. 5. 23.
- (40) 中山昌喜, 松尾洋孝他、ABCG2/BCRP

は痛風の主要な病因遺伝子である。第5回トランスポーター研究会年会，東京，2010.7.10-2010.7.11. 【最優秀発表賞・受賞】

(41) Matsuo H 他、シンポジウム；疾患の原因そして治療の標的分子としてのトランスポーター，Identification of ABCG2/BCRP as major cause for gout. 日本薬物動態学会第25回年会，東京，2010.10.7-2010.10.9.

(42) 松尾洋孝、痛風の主要原因遺伝子 ABCG2 の同定。第15回千葉尿酸懇話会，千葉，2010.11.25.

他、28件

〔図書〕(計19件)

(1) 中山昌喜，松尾洋孝他、ABCG2と高尿酸血症高尿酸血症と痛風。メディカルレビュー社。21(1)；43-8，2013.

(2) 松尾洋孝他、尿酸動態の支配要因としての尿酸トランスポーター。細胞工学。31：553-7，2012.

(3) 千葉俊周，松尾洋孝他、遺伝性腎性低尿酸血症。日本臨床。807-11，2012.

(4) 千葉俊周，松尾洋孝他、テーマ:A. 診断 8. 低尿酸血症の頻度，原因，分類を教えてください。腎と透析。301-4，2012.

(5) 中山昌喜，松尾洋孝他、【腎疾患治療マニュアル2012-13】尿細管疾患 尿細管機能異常症 腎性低尿酸血症。腎と透析。370-3，2012.

(6) 高田龍平，松尾洋孝他、尿酸排出トランスポーターと高尿酸血症の新たな発症メカニズム。日本医事新報「一週一話」(日本医事新報社)。4637：48-9，2013.

(7) 松尾洋孝他、Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌。腎性低尿酸血症の遺伝学。中外医薬社。東京。145-154，2012.

(8) 松尾洋孝、20、【臨床医のための高尿酸血症・痛風のABC】その他 痛風の遺伝素因を教えてください。高尿酸血症と痛風。84-86，2012.

(9) 松尾洋孝、【尿酸】高尿酸血症と腎輸送体。腎臓。34：16-22，2011.

(10) 高田雄三，松尾洋孝、痛風・高尿酸血症の原因遺伝子(ABCG2)。Medical Technology。39：884-886，2011.

(11) 高田雄三，松尾洋孝、尿酸排出トランスポーターABCG2/BCRPと痛風発症リスク。生化学。83：1131-1134，2011.

(12) 松尾洋孝、第7章尿酸のトランスポーター。栄養・食品機能とトランスポーター。建帛社。東京。145-166，2011.

(13) 松尾洋孝、トランスポーターの分子機能を指標とした臨床遺伝学的解析による痛風の主要病因遺伝子 ABCG2 の同定。遺伝子医学 MOOK。19：116-125，2011.

(14) 松尾洋孝、尿酸の再吸収機構と輸送体病 — ゲノムワイド関連解析後の新展開。Annual Review 腎臓 2010。中外医薬社。東京。9-20，2010.

(15) 松尾洋孝、痛風の病因遺伝子。痛風と核酸代謝。34：159-169，2010.

(16) 松尾洋孝他、痛風の主要な病因遺伝子 ABCG2 の同定。実験医学。羊土社。東京。1285-1289，2010.

(17) 中山昌喜，松尾洋孝他、1. 遺伝要因。内科系総合雑誌 Modern Physician。新興医学出版社。東京。1385-1388，2010.

(18) 中山昌喜，松尾洋孝他、痛風の遺伝子。リウマチ科。科学評論社。東京。689-694，2010.

(19) 松尾洋孝、3-2-4 尿酸輸送。トランスポートソームの世界 — 膜輸送研究の源流から未来へ。京都廣川書店。179-191，2011.

## 6. 研究組織

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