

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15661

研究課題名（和文）尿中アルブミン排泄量に関連するSNPの探索と基礎的検討

研究課題名（英文）Genome Wide Association Study Identifies Novel SNPs Associated with Albuminuria in General Population

研究代表者

奥田 拓史（Okuda, Hiroshi）

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・非常勤講師

研究者番号：60868230

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：ToMMo67Kを用いたGWASにて、対象形質に関する候補SNPは検出された。候補SNPはK代謝に関わるタンパク質をコードしていた。候補SNPは、全体のGWASでも、腎機能が正常群のみのGWASでも、ピークが現れたため、腎機能に関係なく尿中アルブミン排泄量に関わっている可能性が示唆された。ToMMo10KとのMeta-GWASを行い、要約統計量を元にpolygenic risk scoreを計算し、重複のないデータでリスク予測を行うところまでは、遂行できなかったため、今後の課題としたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎不全患者は、多くの疾患のリスクファクターを持っており、早期から適切な対応・指導を行うことが、患者本人の健康には大切である。本研究の位置づけとしては、解析検体数を更に増やし、新たな原因遺伝子の発見がなされたことである。今後、更に既報および新規報告された原因遺伝子の基礎的検討がなされ、最終的には新規創薬につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：Candidate SNPs related to the target trait were detected by GWAS using ToMMo67K. The candidate SNP encoded a protein involved in K metabolism. Candidate SNPs showed a peak in both the overall GWAS and the GWAS of only the normal renal function group, suggesting that they may be involved in urinary albumin excretion regardless of renal function. We were unable to perform Meta-GWAS with ToMMo10K, calculate polygenic risk scores based on summary statistics, and perform risk prediction using non-overlapping data, so we would like to leave this as future work.

研究分野：腎臓内科

キーワード：GWAS 蛋白尿 腎不全 遺伝統計学 ゲノム医学

1. 研究開始当初の背景

尿中アルブミン排泄量は糸球体濾過量と併せて、腎不全の重要な指標の一つである。また、腎不全のみならず、様々な疾患リスクや生命予後に関連することが報告されている。一般的に、血圧高値、血糖コントロール不良、腎機能不全に伴って尿中アルブミン排泄量が増加する傾向にあるが、個人差が大きい。これは、尿中アルブミン排泄に関して何らかの遺伝的要因があることを示唆する。研究代表者は、日本人のデータを用いて、尿中アルブミン排泄量に関するゲノムワイド関連解析 (Genome Wide Association Study : GWAS) を行い、初めて報告した (Okuda H., Okamoto K. *et al.* Genome-wide association study identifies new loci for albuminuria in the Japanese population. *Clin Exp Nephrol* **24**, 2020)。また、同論文は、第 24 回日本腎臓学会優秀論文賞を受賞し、高い評価を得た。

本研究では、解析対象を増やし、同定された感受性遺伝子候補に関する基礎的検討を行うことで、最終的には、同定された遺伝子情報を元に、新規創薬につながる可能性がある。

慢性腎臓病 (Chronic kidney disease : CKD) は、保険政策上もっとも深刻な問題の一つである。特に、血液透析患者数は増加の一途をたどっており、それに関わる医療費の増加は、医療経済上大きな問題である。腎不全に至ると、日常生活における食事制限、透析による通院、などによる QOL の低下、種々の合併症のリスクになる。そのため、腎不全に至る前、すなわち腎不全の早期段階から介入することが望まれる。腎機能悪化を早期から捉えることが重要だが、腎機能悪化早期は特徴的な兆候に乏しいため、その把握は大変難しい。

尿中アルブミン排泄量は CKD 領域のみならず、心血管疾患・糖尿病・肥満・高血圧などのバイオマーカーとして知られている。微量アルブミン尿 (30-299 mg/gCr) の基準以下の尿中アルブミン排泄量でも、これら疾患のバイオマーカーとして有用であることが知られている。

一般的に、尿中アルブミン排泄量は、腎機能悪化に伴って増加する。しかし、一方では、正常腎機能で多量の尿中アルブミン排泄を認める場合や、腎機能不全で尿中アルブミン排泄を認めない症例が散見される。糖尿病、高血圧を発症し、尿中アルブミンが陽性であれば、腎機能低下の予測因子となるが、そのような基礎疾患がなく、尿中アルブミン排泄量が正常範囲内であっても、その多寡が将来的な腎機能低下のリスクファクターとなるかどうかはわかっていない。この要因の一つとして、何らかの遺伝的背景が影響していると考えられるが、そのような正常範囲の尿中アルブミン排泄量の遺伝的影響については明らかになっていない。

そこで、尿中アルブミン排泄に関して、なんらかの遺伝的背景があるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

日本人における、尿中アルブミン排泄に関する遺伝的背景を探索するため、GWAS を用いて尿中アルブミン排泄量に影響を与える一塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) を検索する。また、同定された SNP の存在する遺伝子の影響について、基礎的検討を行う。

3. 研究の方法

2011 年発災の東日本大震災後に、東北大学 (宮城県仙台市)、岩手医科大学 (岩手県紫波郡) に、東北メディカル・メガバンク機構 (Tohoku Medical Megabank Organization : ToMMo)、いわて東北メディカル・メガバンク機構 (Iwate Tohoku Medical Megabank Organization : IMM)、が創設された。両機構合同で行ったプロジェクトである TMM 計画の、地域住民コホート研究において、2013 年～2016 年の間に、宮城、岩手両県において、前記コホート研究に対する公募があり、20 歳から 75 歳までの一般住民約 8 万人が公募された。

研究代表者は、既報において、2013 年までにデータを採取した 1 万人のデータを用いて、尿中アルブミン排泄量に関する GWAS を行い、18 多型、14 領域に SNP を報告した。

本研究では、既報とは異なる検体で追試験を行い、かつ検体数も 7 万人分と大幅に増やすことにより、既報の再現性・正確性を検証した。

まず、7 万人分の検体サンプルの品質管理を行った。ジェノタイピング (Genotyping) は、Illumina 社の Human Omni Express Exome- 8 version 1.2 BeadChips を用いて、964,193 マーカーに対して行った。Genotyping の結果を基に、遺伝子型欠測の調査を行い、データ欠損、遺伝子型欠損 (call rate < 98%) を除外した。次に、近親者の評価を行った。近親者の評価は、IBD (Identity by descent ; 同祖的アレルの数) 評価値として用いられる、PI_HAT (IBD estimates) を用いた。PI_HAT = (IBD=2 となるアレルの割合) + (IBD = 1 となるアレルの割合) × 0.5、で求められる。本研究では、いとこ関係を示す PI_HAT 値 = 1/8 と、はとこ関係を示す PI_HAT 値 = 1/16 の中間に当たる、PI_HAT 値 = 3/32 を閾値とし、PI_HAT 値 < 3/32 のサンプルを解析対象から除外する。

次に、マーカーの品質管理を行った。マイナーアレル頻度 (MAF) の調整 (MAF < 0.01 のマーカーを除外)、マーカー単位遺伝子型欠測率の調整 (missing rate > 5% のマーカーを除外)、Hardy Weinberg 平衡検定閾値の調整 ($p < 1.0 \times 10^{-4}$ のマーカーを除外)、重複マーカーの調整

(位置が重複するマーカーのうち低品質のものを除外)を行った。

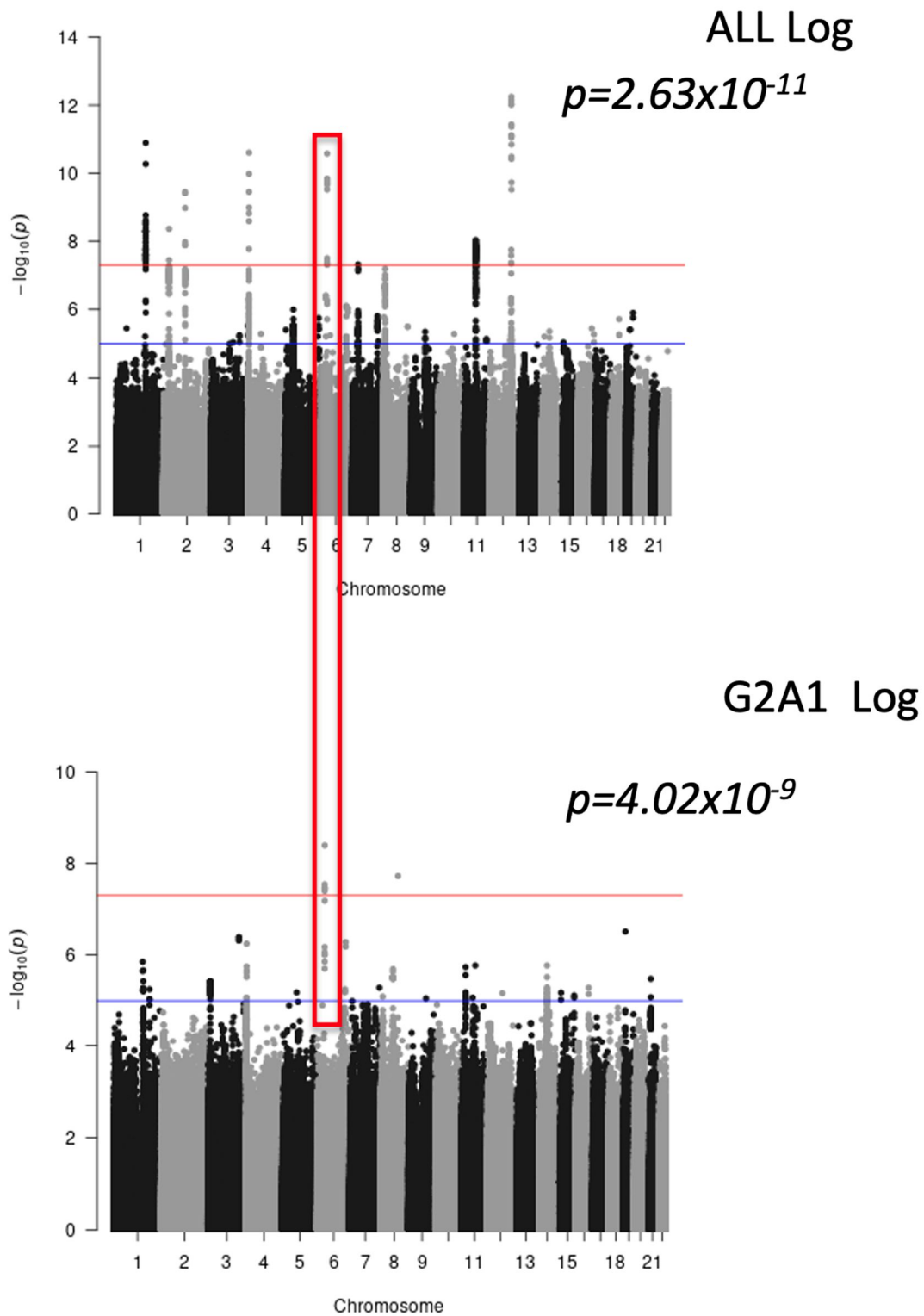
さらに、ジェノタイプ・インピュテーション (Genotype imputation) を行った。Genotype imputation は、SHAPEIT v2.r837 と IMPUTE2 v2.2.2 ソフトウェアを用いて、2KJPN をハプロタイプパネルとして行った。2KJPN は、ToMMo により作成された、2,049 人分の日本人ヒト全ゲノム解析に基づく高精度の住民ゲノム参照パネルである。

表現型 (Phenotype) に関する情報は、登録時の身体測定、血圧測定、血液検査、尿検査、アンケート調査により得た。使用した情報としては、年齢、性別、BMI、収縮期血圧値、尿中 Na 値、尿中 K 値、尿中クレアチニン補正済尿中アルブミン値、血中シスタチン C 値により計算された推算糸球体濾過量、HbA1c、であった。

最後に、それぞれのマーカー-SNP に関して、線形回帰分析を行うことで、尿中アルブミン排泄量に関する GWAS を行った。線形回帰分析は、PLINK を用いて行った。応答変数として尿中クレアチニン補正済尿中アルブミン値、共変量として、年齢、性別、BMI、収縮期血圧値、尿中 Na 値、尿中 K 値、血中シスタチン C 値により計算された推算糸球体濾過量、HbA1c、を用いた。解析結果を可視化するために、マンハッタンプロット、QQ プロット (Quantile-quantile plot) を作成した。マンハッタンプロット、QQ プロット作成にあたっては、統計ソフト R をベースに qqman パッケージを用いた。候補 SNP 周辺の連鎖不平衡を評価するために、Regional Plot を作成する。Regional Plot の作成にあたっては、Locus Zoom を用いた。

4. 研究成果

腎機能正常のみの群と全体群で、応答変数を対数変換し GWAS 解析を行なったところ、図 1 のように、両群に共通するピークが現れた。この遺伝子は、K 代謝に関するタンパク質をコードするものであることが判明し、尿中アルブミン排泄に関連することがわかった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hiroshi Okuda
2. 発表標題 Genome Wide Association Study Identifies Novel SNPs Associated with Albuminuria in General Population
3. 学会等名 The 29th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension (国際学会)
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------