

氏 名 (本 籍) 牧 石 徹 也 (長野県)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 第 4 6 9 号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 6 年 3 月 2 5 日

学 位 論 文 題 目 C-106T Polymorphism of *AKR1B1* Is Associated With Diabetic Nephropathy and Erythrocyte Aldose Reductase Content in Japanese Subjects With Type 2 Diabetes Mellitus

(*AKR1B1* C-106T 遺伝子多型は、日本人2型糖尿病患者において糖尿病性腎症の有無および赤血球中アルドース還元酵素量と相関する)

審 査 委 員 主 査 教 授 西 克 治

副 査 教 授 小 笠 原 一 誠

副 査 教 授 藤 山 佳 秀

論文内容要旨

*整理番号	471	(ふりがな) 氏名	まきいし てつや 牧石 徹也
学位論文題目	C-106T Polymorphism of <i>AKR1B1</i> Is Associated With Diabetic Nephropathy and Erythrocyte Aldose Reductase Content in Japanese Subjects With Type 2 Diabetes Mellitus (<i>AKR1B1</i> C-106T 遺伝子多型は、日本人 2 型糖尿病患者において糖尿病性腎症の有無および赤血球中アルドース還元酵素量と相関する)		

[研究の目的]

糖尿病性腎症（以下、腎症）の発症には遺伝的感受性因子が関与することが疫学的研究により示唆されているが、明らかな疾患感受性遺伝子はいまだ同定されていない。糖尿病状態下の細胞ではポリオール代謝経路が亢進することが知られ、これに伴う種々の細胞内代謝異常が腎症の発症要因の一つとして考えられている。その律速酵素であるアルドース還元酵素（以下、AR）をコードする遺伝子 *AKR1B1* は、有力な腎症疾患感受性遺伝子としていくつかの遺伝子多型が同定され、腎症発症との関連性が検討されているが、一定の見解を得られていない。そこで、*AKR1B1* のプロモーター領域における遺伝子多型に着目し、その腎症発症における意義を解明することを目的とした。

[方法]

1) 対象

1996 年から 2000 年に滋賀医科大学内科外来を受診した 2 型糖尿病患者のうち本研究に対して同意の得られた 646 例を対象とした。

2) 検体の採取と測定

a) 血液検体から血糖、HbA1c、総コレステロール、中性脂肪、尿素窒素を測定し、また白血球 DNA を抽出した。

b) 24 時間蓄尿検体を 2 回以上採取し、尿中アルブミン量を免疫比濁法にて測定した。

c) 赤血球中 AR 量は ELISA 法にて測定した。

3) 腎症病期の決定

正常アルブミン尿期：尿中アルブミン排泄率（以下、AER） $< 20 \mu\text{g}/\text{min}$ 、微量アルブミン尿期： $20 \leq \text{AER} < 200 \mu\text{g}/\text{min}$ 、顕性アルブミン尿期： $200 \leq \text{AER}$ とし、連続して 2 回以上同じ病期を示した場合のみ、それを腎症の病期として使用した。

4) 対象患者の分類

646 例の対象患者の内、微量アルブミン尿期(144 例)または顕性アルブミン尿期(76 例)である 220 例を腎症発症群とし、糖尿病罹病期間が 10 年以上でありかつ正常アルブミン尿期である 228 例をコントロール群として解析を行った。

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2 千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

5) *AKR1B1* 遺伝子型の決定と新たな遺伝子多型の探索

a) 既報の C-106T 遺伝子多型の遺伝子型は、PCR-RFLP (制限酵素断片長多型) 法を用いて決定した。

b) 腎症発症群 11 例およびコントロール群 9 例において、direct sequencing 法を用いて、*AKR1B1* プロモーター領域の塩基配列を転写開始部位より 1500 塩基上流まで決定し、C-11G 遺伝子多型を同定した。同遺伝子多型の遺伝子型についても、PCR-RFLP 法を用いて決定した。

6) 統計解析

両群間における分布頻度の差はカイ二乗検定またはフィッシャーの直接法を、連続変数については Student の *t* 検定を用いた。複数の要因と腎症発症との関連を検定するために多重ロジスティック回帰分析を用いた。ハプロタイプ頻度の予測および連鎖不平衡係数の計算は解析ソフト Arlequin (<http://lgb.unige.ch/arlequin>) を使用した。

【結果】日本人 2 型糖尿病患者において、① C-106T 遺伝子多型の遺伝子型頻度は、腎症発症群とコントロール群間で分布頻度に有意な差を認めた ($p=0.031$)。TT 遺伝子型保有者は、コントロール群に比し腎症発症群に有意に多く分布していた (オッズ比 4.7, 95% 信頼区間 1.3-17)。② 赤血球中 AR 量は、腎症発症群でコントロール群に比し有意に高く (10.6 ± 1.3 vs 10.1 ± 1.2 ng/mg Hb; $p=0.041$)、また TT 遺伝子型保有者で他の遺伝子型保有者に比し有意に上昇していた (13.1 ± 1.2 vs 10.2 ± 1.2 ng/mg Hb; $p<0.001$)。③ 新たに同定された C-11G 遺伝子多型の遺伝子型頻度は両群間で分布頻度に差を認めず、また C-106T 遺伝子多型とのハプロタイプ解析においても両群間で差を認めなかった。

【考察】日本人 2 型糖尿病患者において、*AKR1B1* プロモーター領域に存在する C-106T 遺伝子多型が腎症の有無と相関することが示された。また、赤血球中 AR 量は、TT 遺伝子型保有者において他の遺伝子型に比し有意に上昇しており、さらに腎症発症群においてもコントロール群に比し有意に上昇していたことが示された。以上から、C-106T 遺伝子多型は AR の発現調節を介して腎症発症に関与している可能性が考えられた。このことは、同遺伝子多型が腎症疾患感受性因子の一つである可能性を示唆するだけでなく、临床上使用可能な AR 阻害薬により治療効果の期待できる患者 (レスポナー) を選別しうる可能性をも示唆する。これらの知見は、腎症に対するオーダーメイド医療への可能性を考えていく上で、今後、重要な位置づけを占めると確信している。

【結論】本研究の結果により、日本人 2 型糖尿病患者において *AKR1B1* の C-106T 遺伝子多型が腎症の有無および赤血球中 AR 量と相関することが明らかとなった。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	471	氏名	牧石徹也
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>糖尿病性腎症の発症原因の一つとして、遺伝的感受性因子の関与が考えられている。本研究は、ポリオール代謝経路の律速酵素であるアルドース還元酵素の遺伝子 <i>AKR1B1</i> に着目し、大規模な日本人 2 型糖尿病患者サンプルを用いて、そのプロモーター領域における遺伝子多型と糖尿病性腎症との関連およびその機構について検討したものである。</p> <p>その結果、<i>AKR1B1</i> プロモーター領域に存在する C-106T 遺伝子多型が糖尿病性腎症の有無と相関すること、赤血球中 AR 量は TT 遺伝子型保有者で他の遺伝子型に比し有意に増加すること、さらに糖尿病性腎症発症群でコントロール群に比し有意に増加することを明らかにした。</p> <p>このように本論文は 2 型糖尿病患者における糖尿病性腎症発症の遺伝素因解明への端緒となるものであり、博士（医学）の学位論文に値する。</p> <p>なお、本学位授与申請者は平成 16 年 2 月 3 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められた。</p>			
(平成 16 年 2 月 12 日)			