

oxidase、HLA DR14 が有意に影響していることが判明した。

「腎ネット」でのデータベースでは遺伝子関連のデータと共に、種々の臨床データの入力も行っている。糖尿病の合併症発症進展に関与する酸化ストレスの指標としては尿中 8-hydroxydeoxyguanine(8OHdG) (図 11) を測定している。今回の検討では、酸化ストレス関連遺伝子として Mn-SOD と NADH/NADPH oxidase を解析しており、これらの遺伝子多型の尿中 8OHdG 排泄への影響の有無を検討した。その結果、図 12, 13 に示すように、両遺伝子とも遺伝子多型間で尿中 8OHdG 排泄に有意な差はなかった。

D. 考案

一般にある遺伝子多型が疾患感受性に影響するためには、遺伝子産物が対象疾患の病態形成の関与していること、解析した遺伝子多型の違いがその遺伝子産物の発現量あるいは活性に影響することが必要である。逆にいうと疾患感受性に影響する遺伝子が発見できた場合は、テーラーメイド医療も加味した治療指針作成が可能になるのみでなく、その疾患の病態解明にも重要な情報を提供できる。

現在まで遺伝子多型の疾患感受性に対する影響に関する研究は数多く報告されているが、残念ながら同じ遺伝子多型に対する研究でも結論が一定しないのが現状である。今回検討した遺伝子の中で、ACE、AT1R、ecNOS、vWF に関してはすでに糖尿病性腎症への関与を示した報告がなされている。しかし、腎疾患への関与が最も検討されている ACE でさえ否定的な結果を示す報告が存在する。これは、疾患感受性に人種差が影響すると共に、種々の原因で false negative、false positive が起こりえるからである。よって遺伝因子の解明のためには、日本人を対象にした全国レベルの大

規模なデータベースが必須であると考えられる。我々が構築している「腎ネット」によるデータベースは、この目的を達成するためには最適と考えられる。更に本データベースでは、環境因子をできるだけあわせることにより false negative を減少させる工夫をしている。すなわち罹病期間が短いか、血糖コントロールが良好であったため腎症が発症しなかった症例を排除するため罹病期間が 8 年以上で網膜症を発症している患者のみを対象とした。一方、数多くの遺伝子多型を解析した場合、例えば危険率 5% を有意水準とすると 20 個の遺伝子多型を解析するたびに 1 個統計学的に false positive が出現する可能性がある。したがって結果の解釈は慎重に行う必要がある。

今回の解析では、結果に示したように TGFβ1 の T allele の存在 (CT 又は CC)、NADH/NADPH oxidase の T allele の存在 (CT 又は CC)、HLA DR12, DR14 の存在が糖尿病性腎症の発症進展の防御因子として作用する可能性が示唆された。年齢、性で補正した多変量ロジスティック解析では、TGFβ1 の T allele の存在で、微量群以上への進展、顕性腎症への進展のオッズ比は各々 0.46 倍、0.40 倍、NADH/NADPH oxidase の T allele の存在時の微量群以上への進展のオッズ比は 0.42 倍、HLA DR12 存在時の顕性腎症への進展のオッズ比は 0.20 倍、HLA DR14 存在時の微量群以上への進展のオッズ比は 0.34 倍であった。一般に、疾患感受性の他に、対象遺伝子の機能にも遺伝子多型が影響することを証明できれば evidence として強固なものになる。本データベースでは酸化ストレスの指標としては尿中 8OHdG 排泄率を測定し、NADH/NADPH oxidase 及び Mn-SOD の遺伝子多型が影響するかを検討した。残念ながら、遺伝子多型間で尿中 8OHdG 排泄に有意な差はなかった。これは、尿中

80HdG 排泄率に血糖コントロール状態、喫煙状態などの環境因子が影響するためと考えられる。層別解析が可能になる程度のデータベースの登録患者数を増やすことが期待される。

E. 結論

国立病院・療養所腎疾患ネットワーク「腎ネット」で構築したデータベースをもとに糖尿病性腎症発症進展に関与する遺伝子の検討を行った。その結果、TGFβ1 の T allele の存在 (CT 又は TT)、NADH/NADPH oxidase の T allele の存在 (CT 又は TT)、HLA DR12, DR14 の存在が糖尿病性腎症の発症進展の防御因子として作用する可能性が示唆された。これは、TGFβ1、酸化ストレス、免疫系が糖尿病性腎症発症進展に関与することの傍証になりえる。さらに、対象患者数を増やしてこれらに遺伝子の関与をより確実にすることができれば、例えば NADH/NADPH oxidase の CC を有する糖尿病患者には抗酸化剤を積極的に投与するといったテーラーメイド医療をも考慮した治療指針の作成が可能になると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

2001 年生体パーオキシサイド研究会 (2001 年 8 月、仙台)

「糖尿病性腎症発症進展における酸化ストレスの関与に関する検討 : 国立病院・療養所 HOSPnetDM 腎症研究」
国立佐倉病院 内科 1、臨床研究部 2、
国立病院・療養所研究協力施設 3
西村元伸 1、山田研一 2、HOSPnet DM 腎症研究班 3

2002 年日本糖尿病学会 (2002 年 5 月東京予定)

「糖尿病性腎症発症進展における酸化ストレスの関与に関する検討 : 国立病院・療養所 HOSPnetDM 腎症研究」
国立佐倉病院内科 1、臨床研究部 2、国立病院・療養所研究協力施設 3
西村元伸 1、山田研一 2、HOSPnet DM 腎症研究班 3

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

表1. 検診群および糖尿病性腎症各病期間の遺伝子多型頻度の比較

	検診群 vs 正常群 p値	検診群 vs 微量群 p値	検診群 vs 顕性群 p値	検診群 vs 全糖尿病 p値	正常群 vs 微量群 p値	正常群 vs 顕性群 p値	正常群 vs 微量・顕性群 p値
ACE (intron 16) DD vs DI+II	0.123	0.016	0.041	0.007	0.501	0.667	0.522
AT1R (A1166C) AA vs AC	0.579	0.177	0.837	0.824	0.113	0.796	0.286
ecNOS (Glu298Asp) AA vs AB	0.634	0.509	0.225	0.639	0.364	0.470	0.834
ecNOS (T-786C) TT vs CT+CC	0.560	0.805	0.327	0.808	0.515	0.198	0.243
TGFβ1 (Leu10Pro) CC vs CT+TT	0.180	0.798	0.228	0.974	0.194	0.040	0.056
vWF (G-1151A) AA vs AG+GG	0.832	0.541	0.808	0.784	0.498	0.710	0.544
Mn-SOD(C47T) CC+CT vs TT	0.797	0.889	0.975	0.954	0.751	0.818	0.750
NADPH (C242T) CC vs CT+TT	0.572	0.100	0.106	0.244	0.062	0.065	0.022
apo B (C→T) CC vs CT	0.318	0.965	0.105	0.183	0.430	0.423	0.922
PPARγ (C→G) CC vs CG+GG	0.452	0.175	0.709	0.712	0.085	0.391	0.114

カイ自乗検定

正常群: 正常アルブミン尿群、微量群: 微量アルブミン尿群、顕性群: 顕性腎症群

表2 検診群および糖尿病性腎症各病期のHLA class II DRの分布と比較

人数	検診群		検診群		検診群		検診群		正常群		正常群	
	正常	顕性	vs	p値	vs	p値	vs	p値	vs	p値	vs	p値
	78人	66人										
DR1 有(%)	14.0	9.1	11.5	13.8	0.576	0.292	0.969	0.425	0.632	0.679	0.985	
DR3 有(%)	0.0	0.0	1.3	0.0	0.087			0.295	0.36	0.36	0.196	
DR4 有(%)	39.5	34.8	44.9	47.7	0.356	0.496	0.235	0.482	0.198	0.79	0.551	
DR7 有(%)	0.4	0	1.2	0	0.425	0.59	0.593	0.951	0.356	0.36	0.194	
DR8 有(%)	25.0	27.3	17.9	20.0	0.197	0.723	0.395	0.378	0.18	0.755	0.331	
DR9 有(%)	25.9	28.8	20.5	32.3	0.342	0.637	0.305	0.828	0.249	0.109	0.114	
DR10 有(%)	0.9	0.0	0.0	0.0	0.407	0.445	0.449	0.175				
DR11 有(%)	4.8	4.5	6.4	7.7	0.587	0.925	0.369	0.522	0.626	0.765	0.93	
DR12 有(%)	11.0	9.1	14.1	3.1	0.458	0.662	0.052	0.515	0.353	0.022	0.052	
DR13 有(%)	15.4	12.1	11.5	12.3	0.429	0.513	0.541	0.313	0.936	0.91	0.91	
DR14 有(%)	17.1	10.6	19.2	7.7	0.671	0.201	0.061	0.222	0.152	0.048	0.036	
DR15 有(%)	32.5	39.4	38.5	41.5	0.334	0.295	0.174	0.114	0.909	0.708	0.775	
DR16 有(%)	1.3	0	1.3	0	0.982	0.349	0.353	0.359	0.356	0.36	0.194	

カイ自乗検定

正常群：正常アルブミン尿群、微量群；微量アルブミン尿群、顕性群；顕性腎症群

表 3 : 腎症病期 (正常vs微量) を従属変数とした
多変量ロジスティック解析 (強制投入法)

	B	df	p値	OR	95%CI Lower — Upper
ACE (intron 16) DD vs DI+II	0.03	1	0.932	1.03	(0.522 — 2.033)
AT1R (A1166C) AA vs AC	-0.85	1	0.107	0.43	(0.152 — 1.200)
ecNOS (Glu298Asp) AA vs AB	0.60	1	0.314	1.82	(0.567 — 5.848)
ecNOS (T-786C) TT vs CT+CC	0.24	1	0.601	1.27	(0.525 — 3.051)
TGFβ1 (Leu10Pro) CC vs CT+TT	-0.62	1	0.162	0.54	(0.227 — 1.281)
vWF (G-1151A) AA vs AG+GG	-0.26	1	0.518	0.77	(0.353 — 1.690)
Mn-SOD(C47T) CC+CT vs TT	-0.10	1	0.797	0.90	(0.409 — 1.988)
NADPH (C242T) CC vs CT+TT	-0.88	1	0.068	0.42	(0.162 — 1.068)
apo B (C→T) CC vs CT	0.62	1	0.426	1.87	(0.401 — 8.690)
PPARγ (C→G) CC vs CG+GG	-1.79	1	0.104	0.17	(0.019 — 1.449)
HLA:DR12	-0.51	1	0.346	0.60	(0.209 — 1.731)
HLA:DR14	-0.68	1	0.169	0.51	(0.192 — 1.335)

年齢、性を投入

表 4 : 腎症病期 (正常vs顕性) を従属変数とした
多変量ロジスティック解析 (強制投入法)

	B	df	p値	OR	95%CI	
					Lower	Upper
ACE (intron 16) DD vs DI+II	0.21	1	0.619	1.24	(0.534	— 2.867)
AT1R (A1166C) AA vs AC	-0.05	1	0.910	0.95	(0.392	— 2.305)
ecNOS (Glu298Asp) AA vs AB	-0.59	1	0.439	0.55	(0.123	— 2.486)
ecNOS (T-786C) TT vs CT+CC	0.57	1	0.225	1.77	(0.703	— 4.477)
TGFβ1 (Leu10Pro) CC vs CT+TT	-0.91	1	0.032	0.40	(0.176	— 0.925)
vWF (G-1151A) AA vs AG+GG	-0.13	1	0.756	0.88	(0.401	— 1.941)
Mn-SOD(C47T) CC+CT vs TT	-0.06	1	0.878	0.94	(0.433	— 2.046)
NADPH (C242T) CC vs CT+TT	-0.87	1	0.061	0.42	(0.169	— 1.040)
apo B (C→T) CC vs CT	-0.88	1	0.455	0.42	(0.042	— 4.157)
PPARγ (C→G) CC vs CG+GG	-0.58	1	0.436	0.56	(0.132	— 2.396)
HLA:DR12	-1.63	1	0.039	0.20	(0.041	— 0.921)
HLA:DR14	-1.07	1	0.053	0.34	(0.116	— 1.012)

年齢、性を投入

表5：腎症病期（正常vs微量・顕性）を従属変数とした
多変量ロジスティック解析（強制投入法）

	B	df	p値	OR	95%CI Lower — Upper
ACE (intron 16) DD vs DI+II	0.25	1	0.492	1.28	(0.630 — 2.618)
AT1R (A1166C) AA vs AC	-0.41	1	0.305	0.66	(0.304 — 1.451)
ecNOS (Glu298Asp) AA vs AB	0.14	1	0.796	1.15	(0.394 — 3.367)
ecNOS (T-786C) TT vs CT+CC	0.40	1	0.297	1.49	(0.706 — 3.130)
TGFβ1 (Leu10Pro) CC vs CT+TT	-0.78	1	0.039	0.46	(0.216 — 0.962)
vWF (G-1151A) AA vs AG+GG	-0.17	1	0.617	0.84	(0.430 — 1.650)
Mn-SOD (C47T) CC+CT vs TT	-0.07	1	0.840	0.93	(0.479 — 1.821)
NADPH (C242T) CC vs CT+TT	-0.87	1	0.023	0.42	(0.198 — 0.888)
apo B (C→T) CC vs CT	0.11	1	0.879	1.12	(0.259 — 4.839)
PPARγ (C→G) CC vs CG+GG	-1.03	1	0.126	0.36	(0.096 — 1.336)
HLA:DR12	-0.94	1	0.056	0.39	(0.149 — 1.024)
HLA:DR14	-0.87	1	0.039	0.42	(0.185 — 0.957)

年齢、性を投入

図1: ACE (intron 16 insertion/deletion)

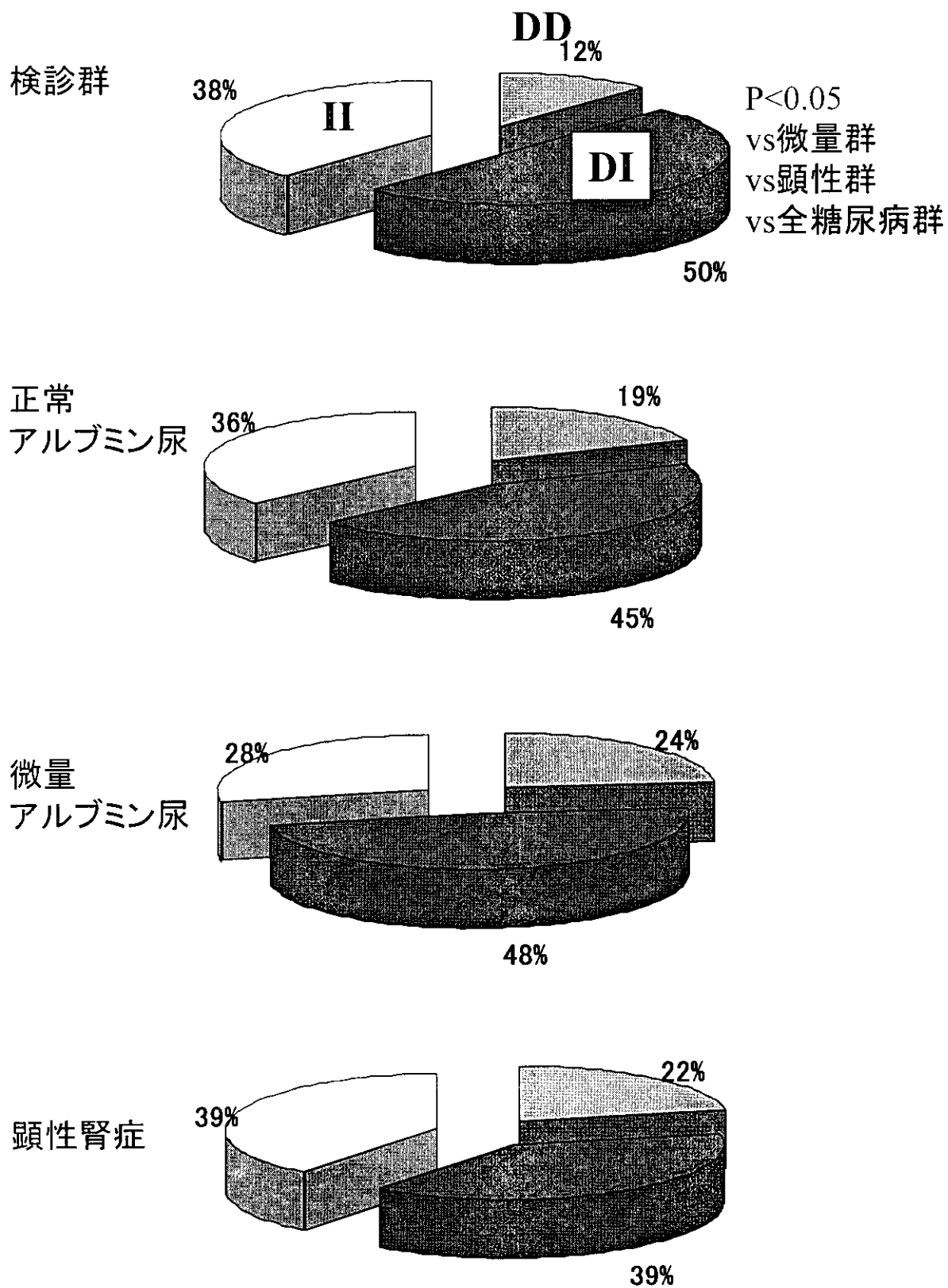


図 2 : AT1R (A1166C)

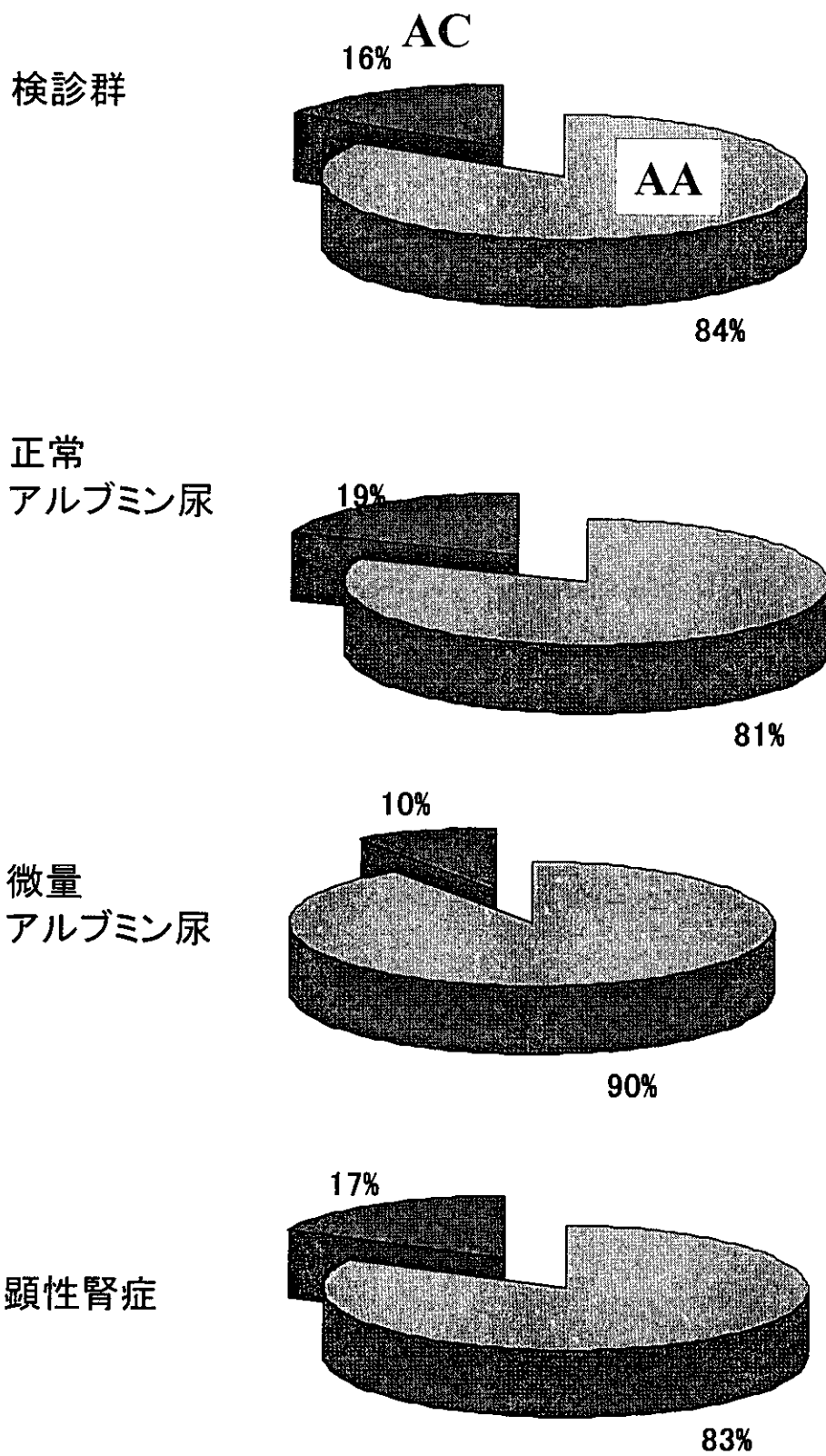


図3: ecNOS exon 7 (Glu298Asp, AA vs AB)

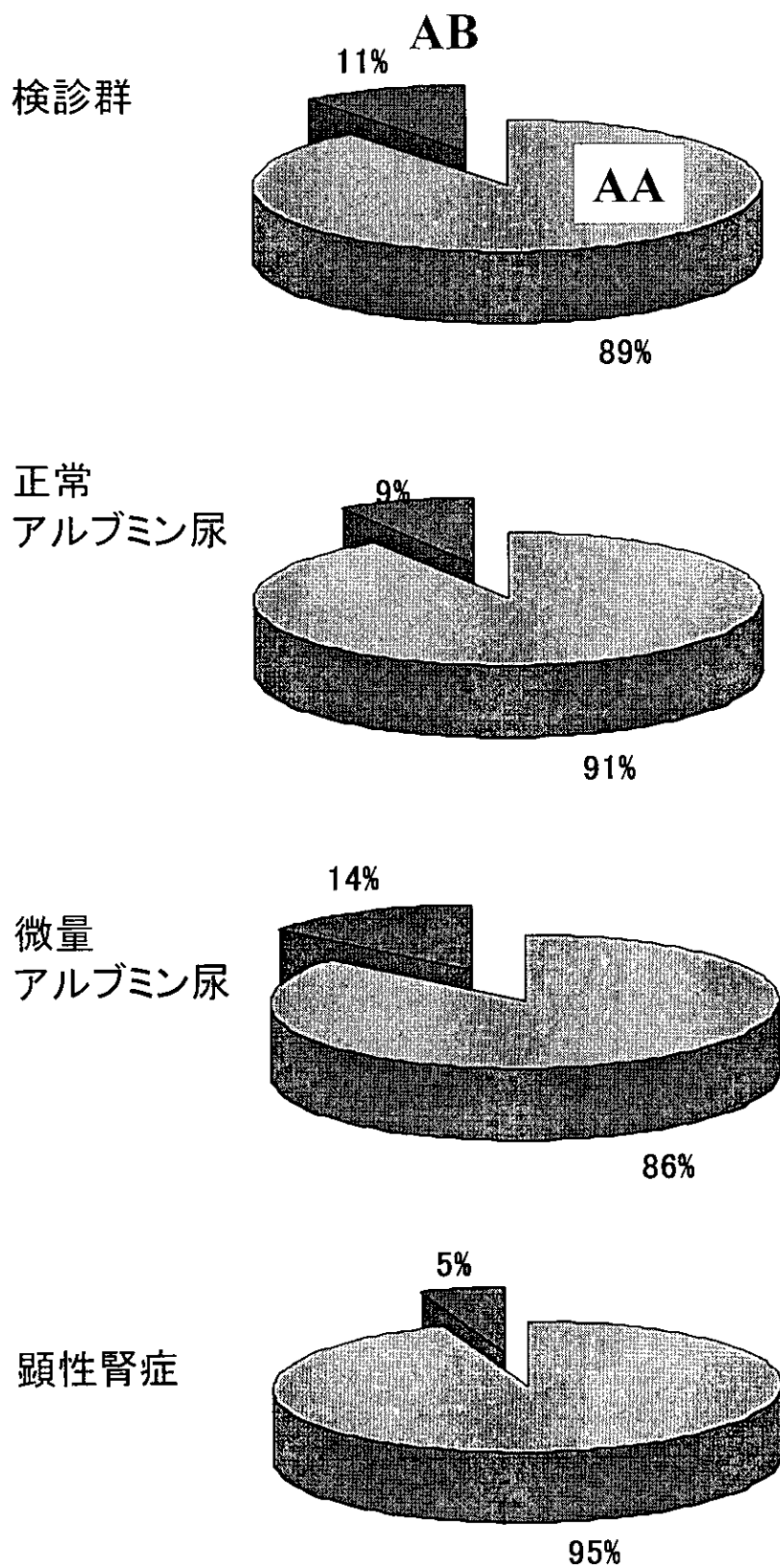


図 4 : eNOS promotor (T-786C)

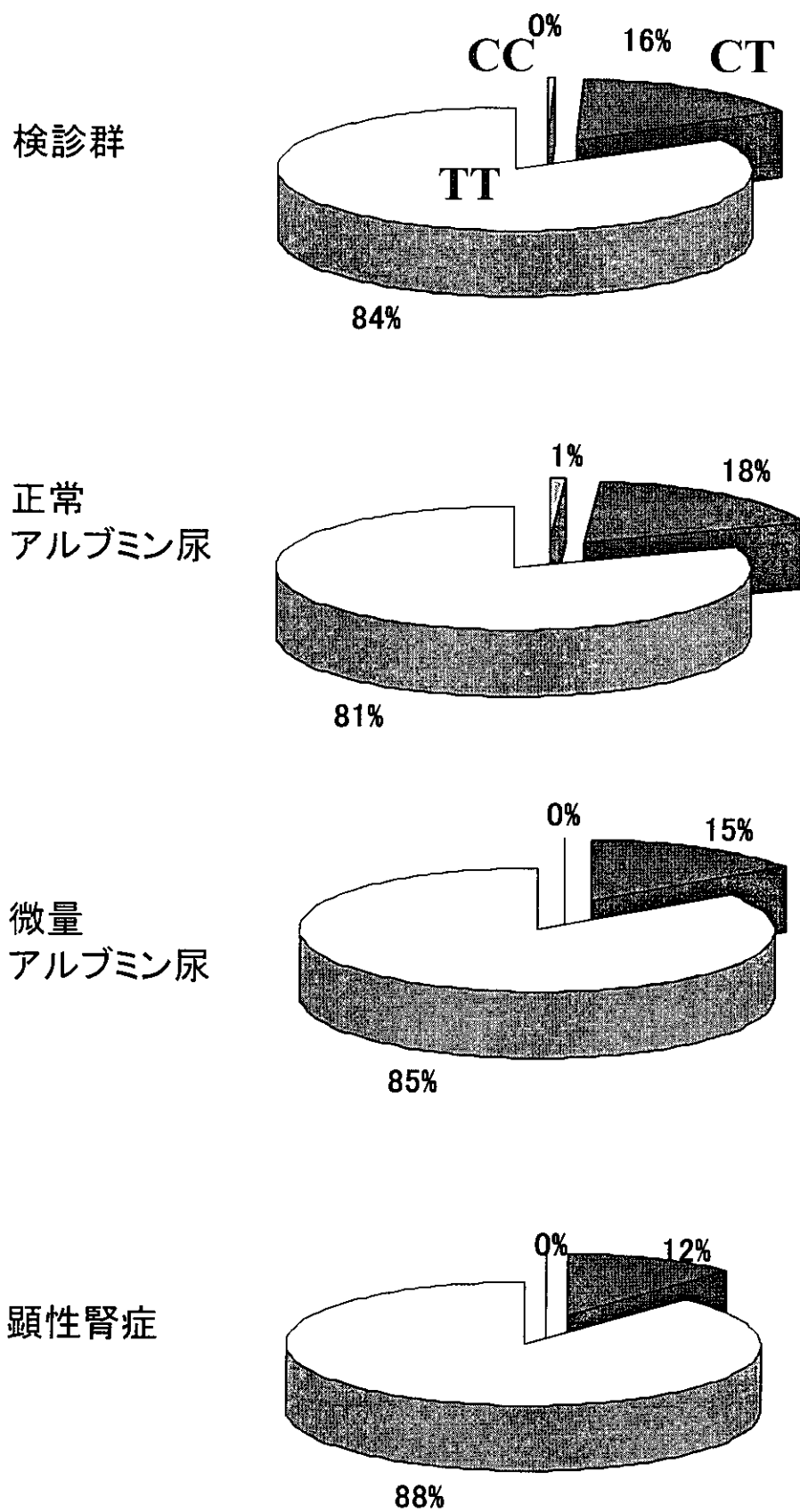


図 5 : TGFβ1 (Leu10Pro)

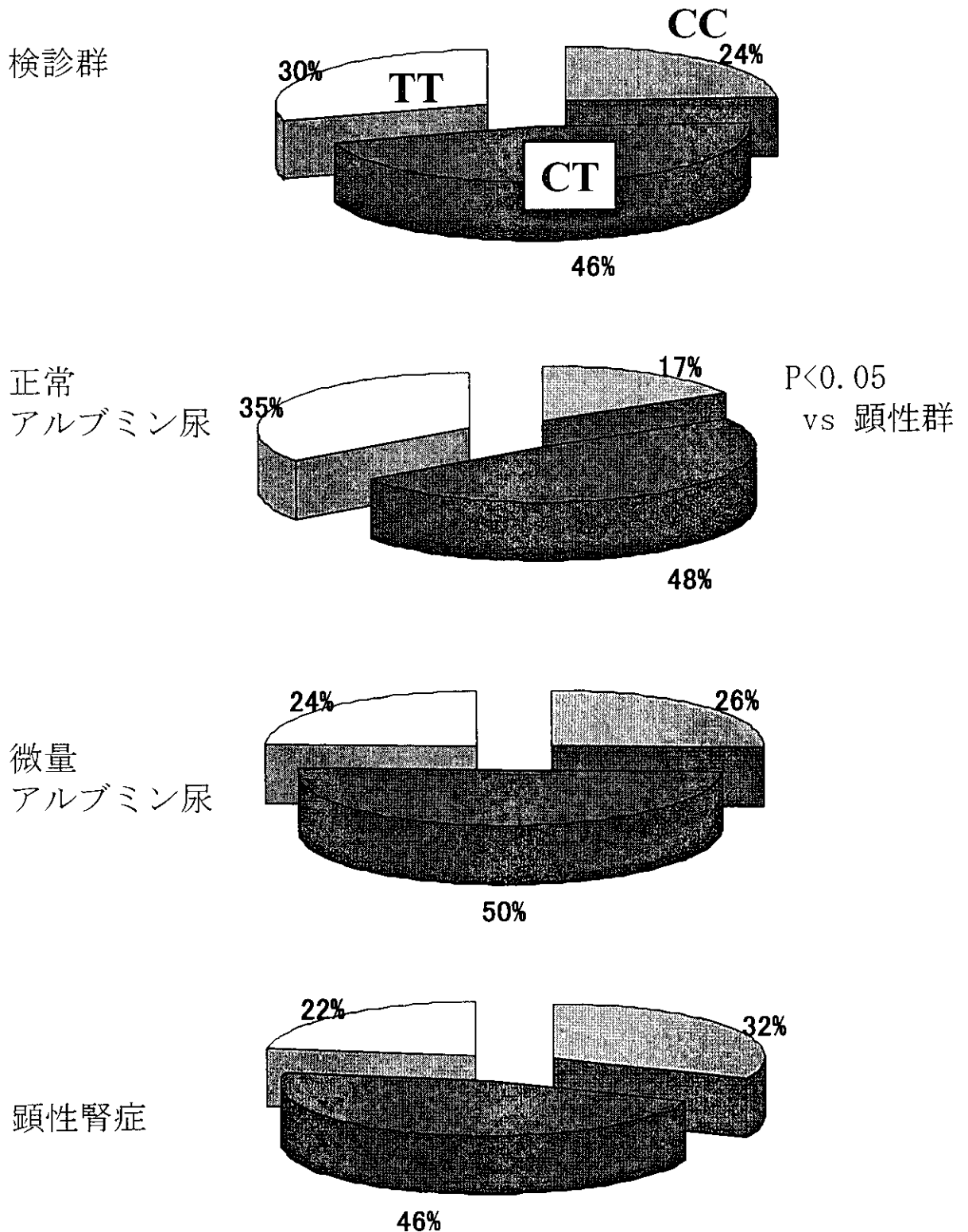


図 6 : vWF promotor (G-1051A)

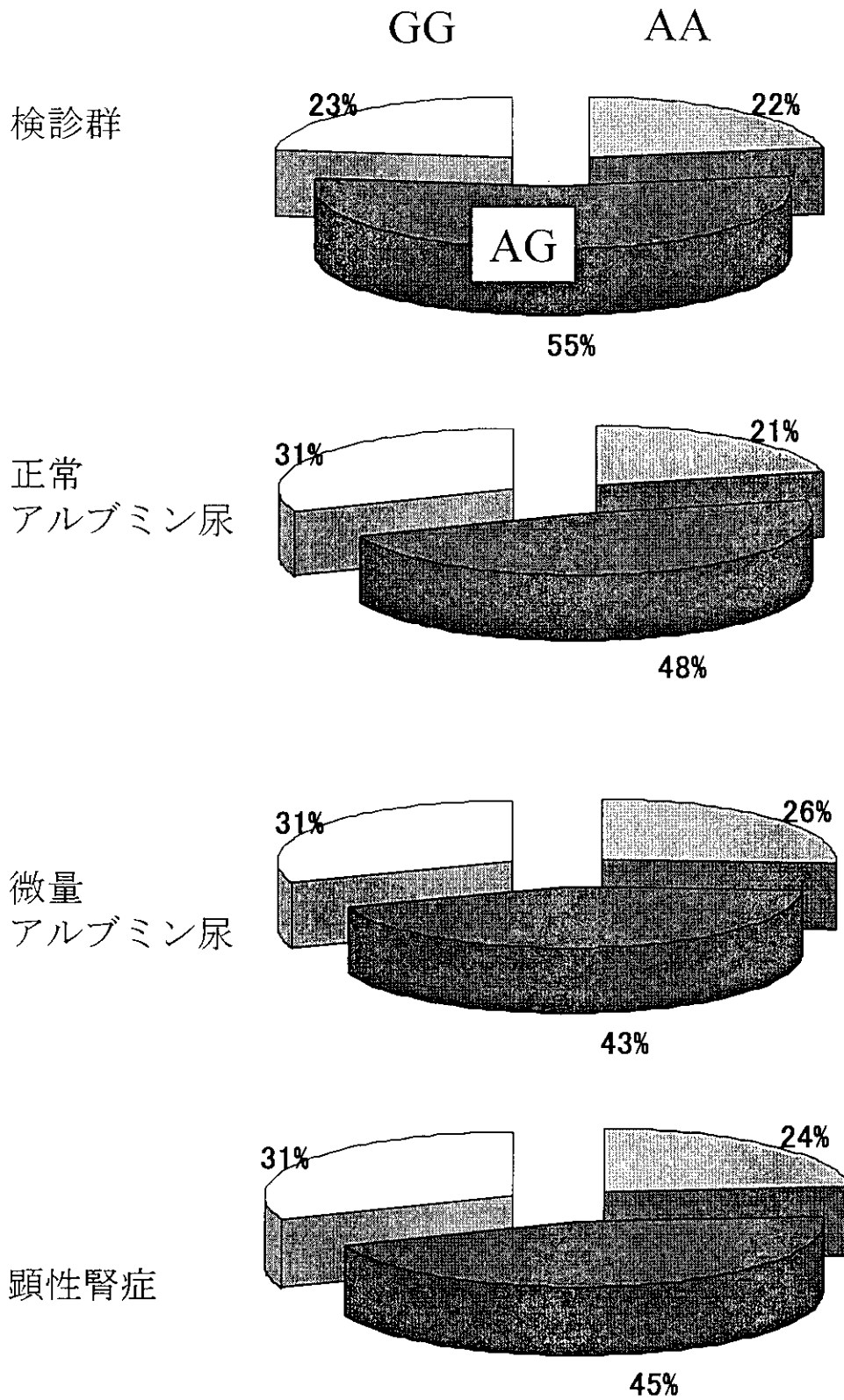


図 7 : Mn-SOD (C47T)

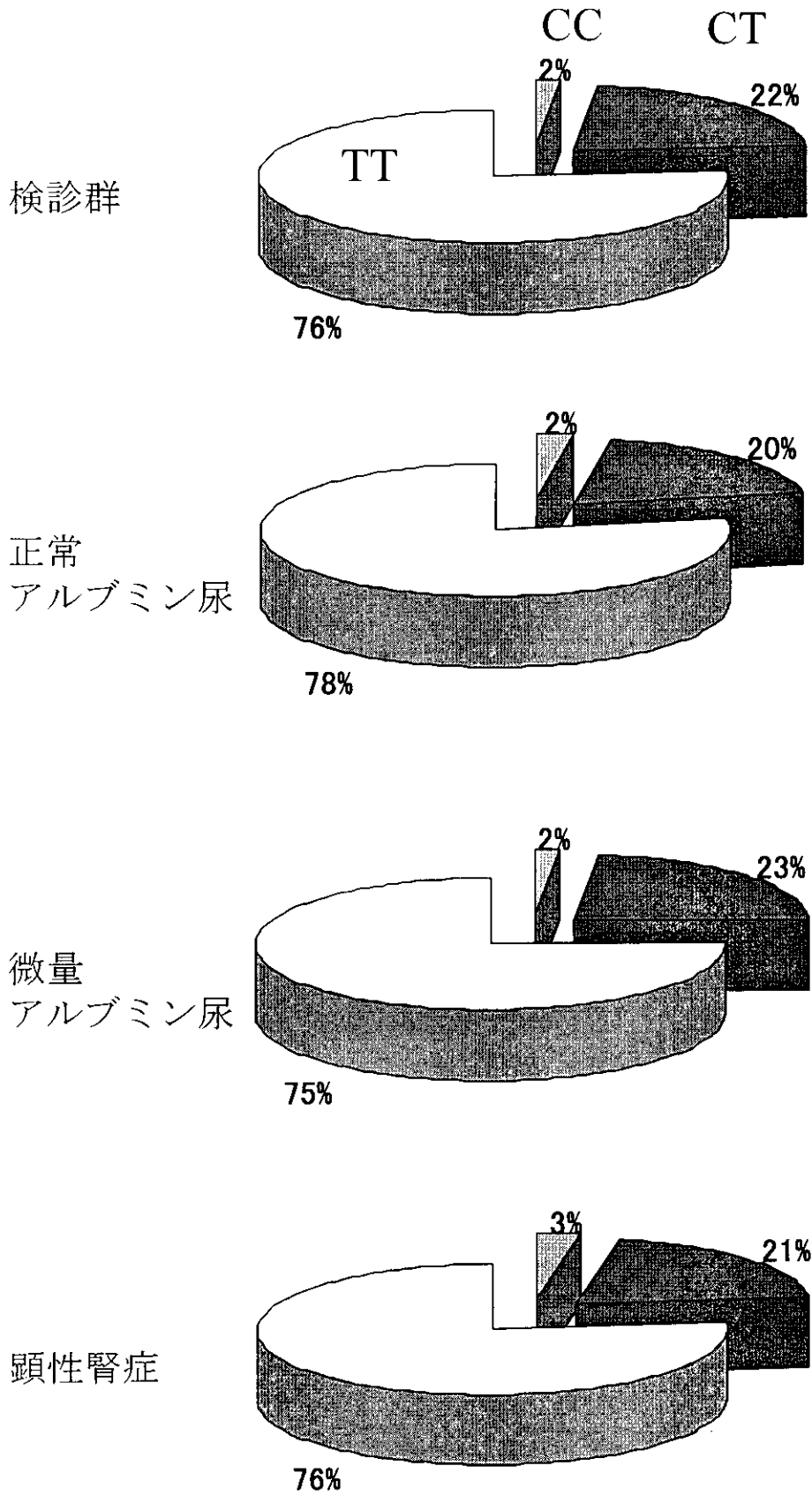


図 8 : NADH/NADPH oxidase (C242T)

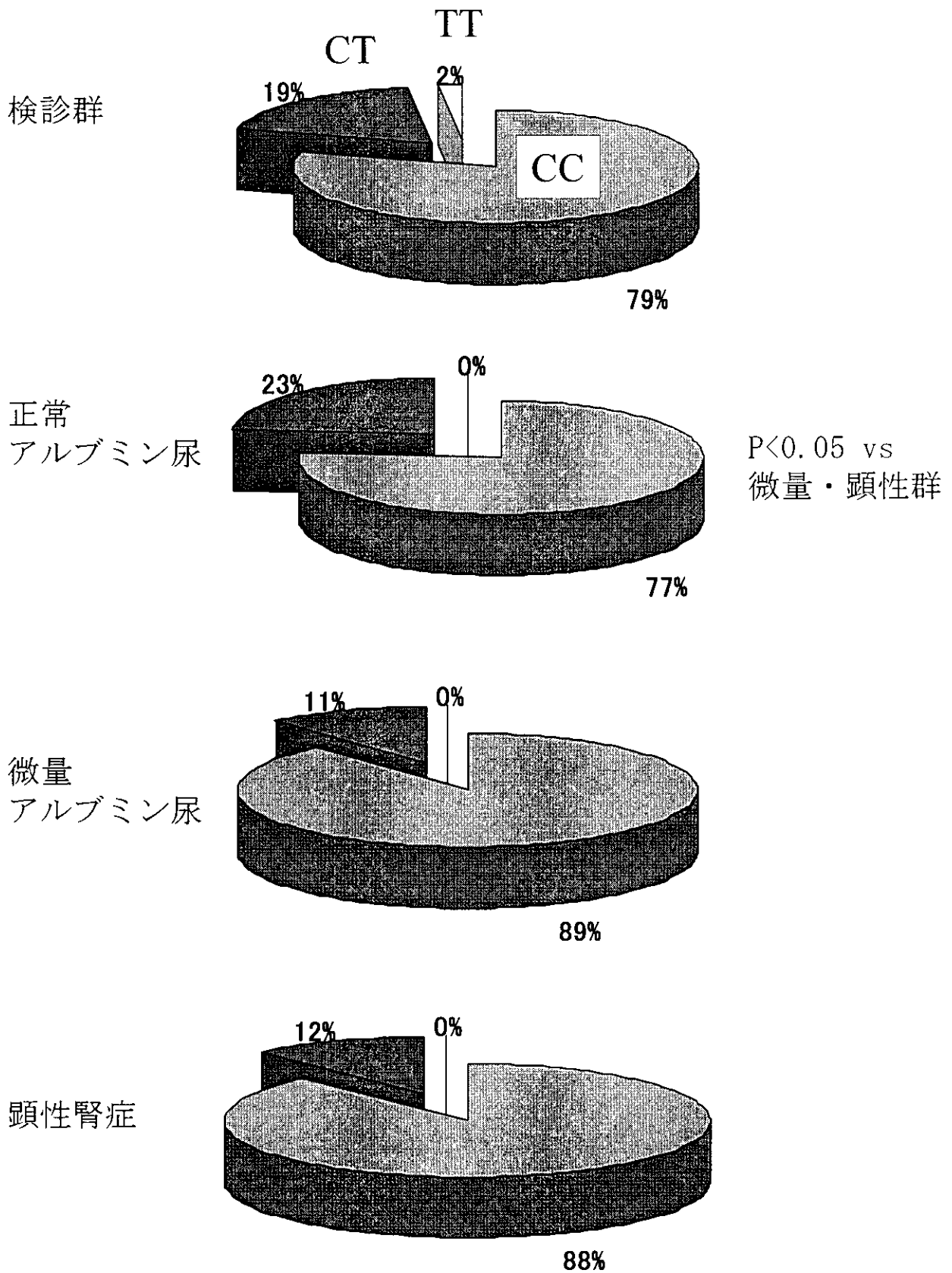
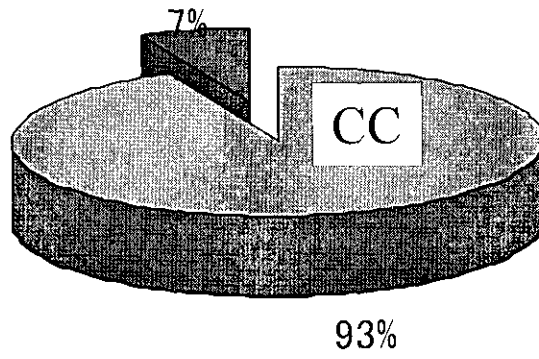


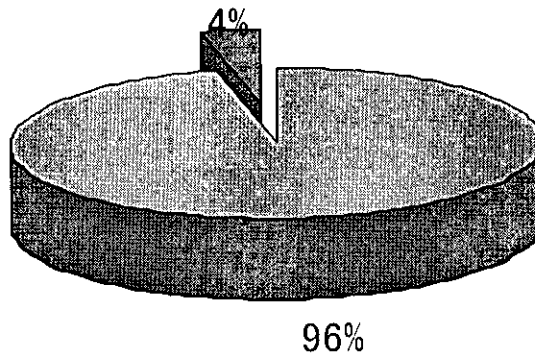
図 9 : Apo B (C→T)

CT

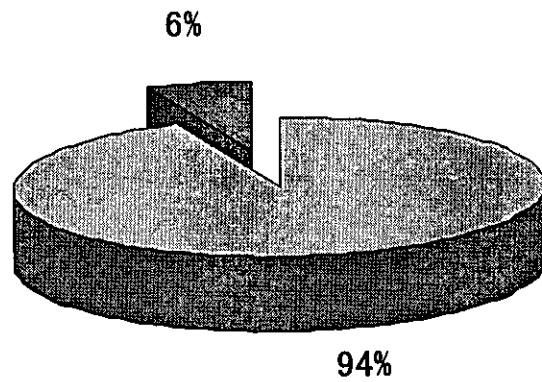
検診群



正常
アルブミン尿



微量
アルブミン尿



顕性腎症

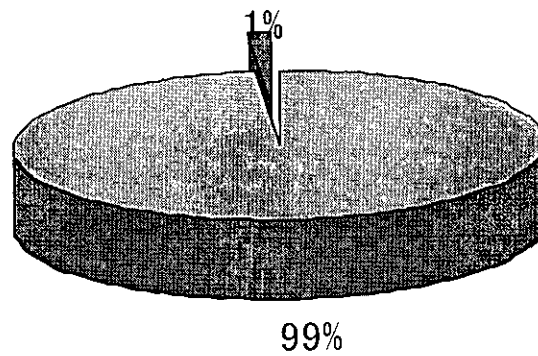


図 10 : PPAR γ (C→G)

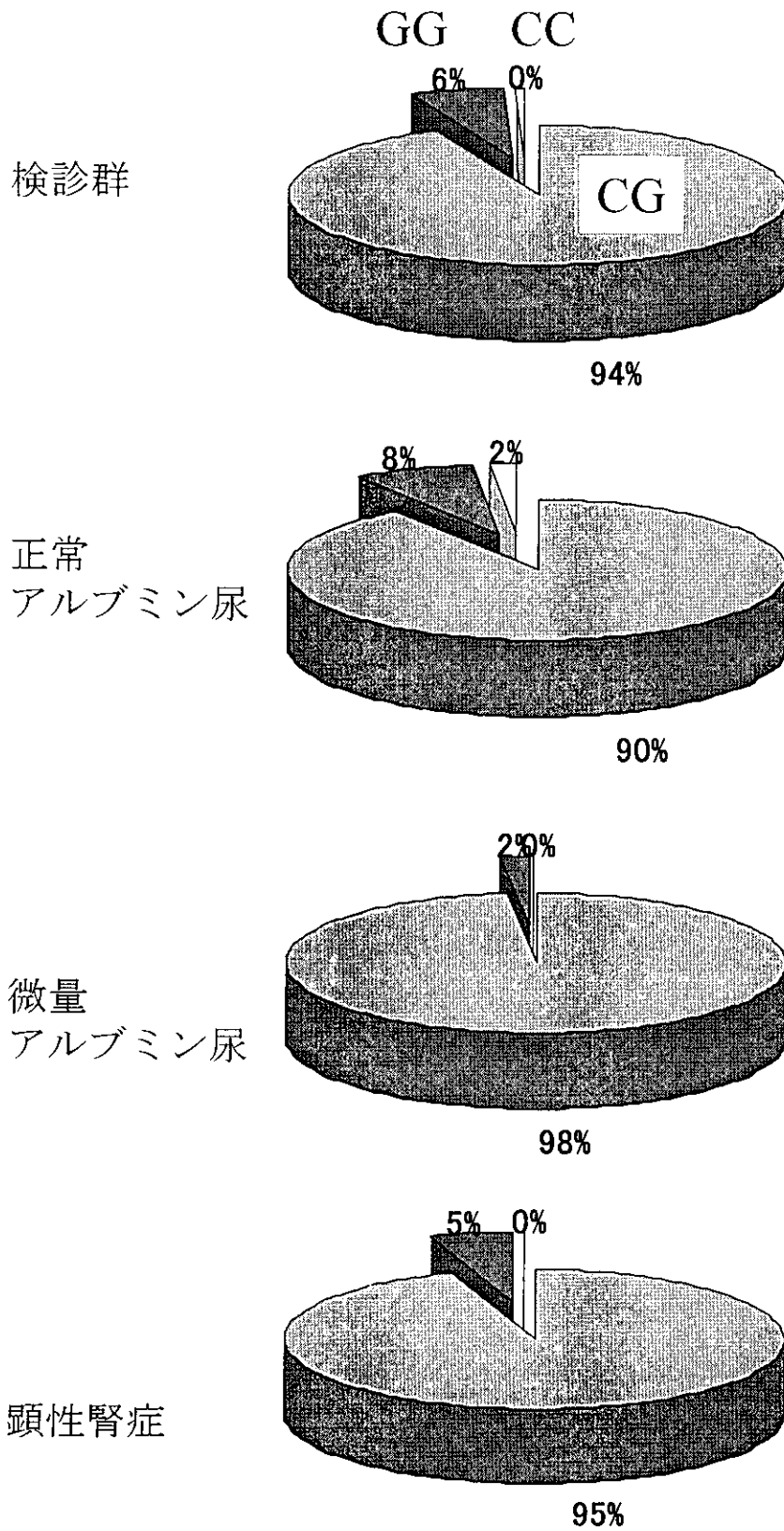
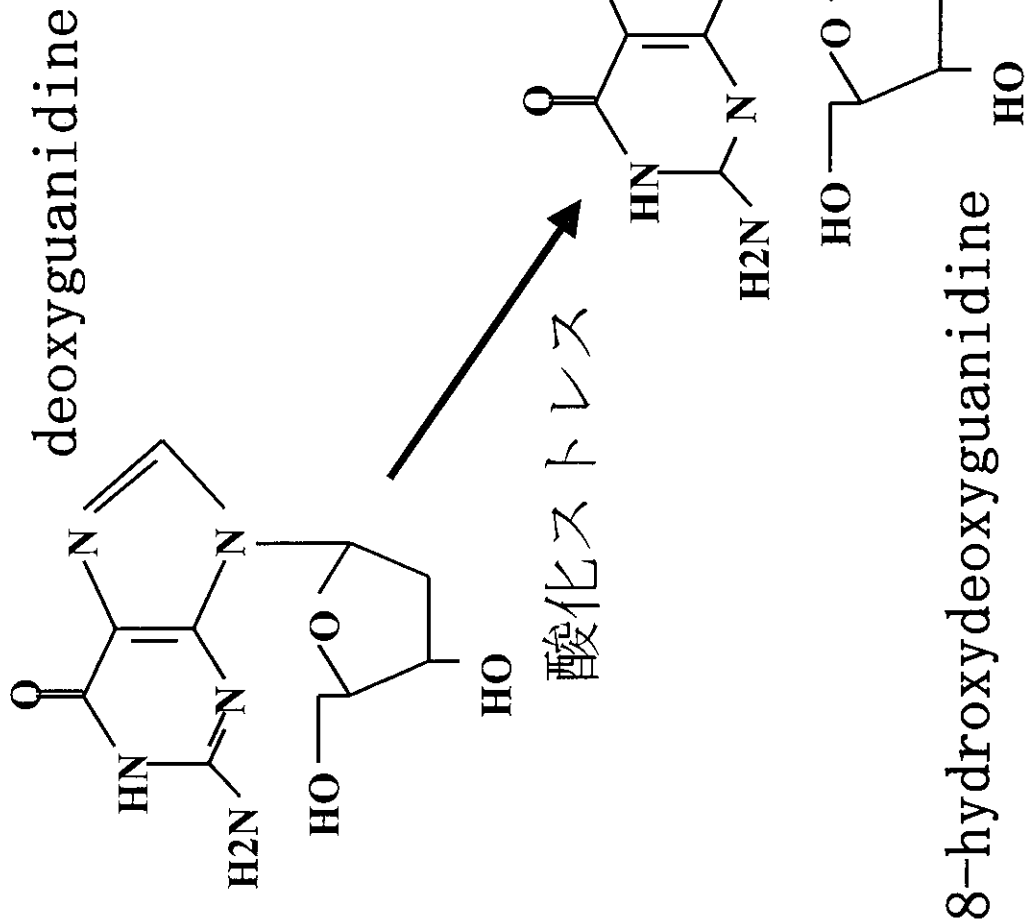


図11 : 8-hydroxydeoxyguanine (8OHdG)



エンドヌクレアーゼによる修復

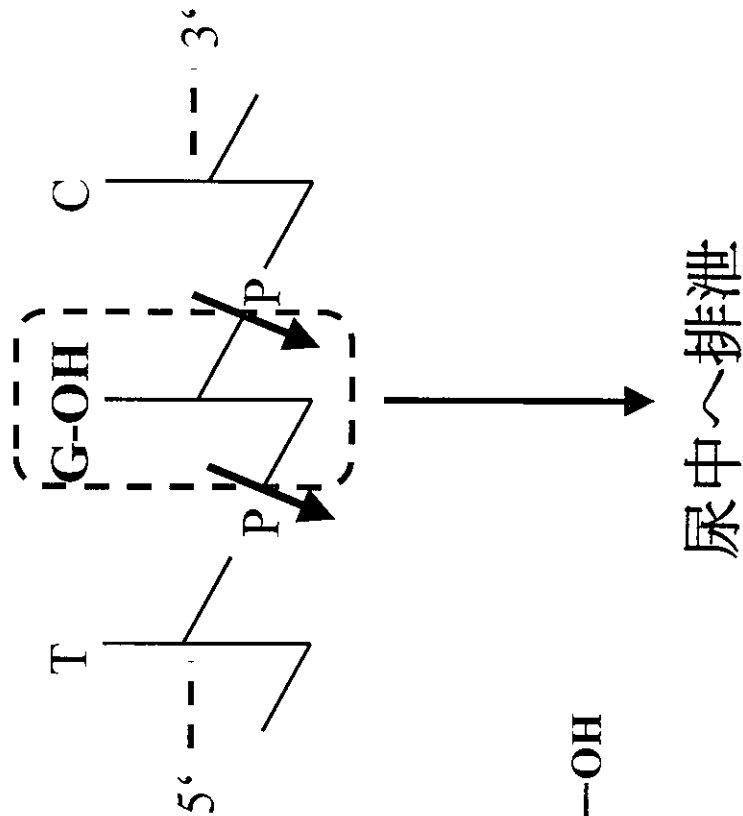


図12： Mn-SODの遺伝子多型による尿中80HdGの比較

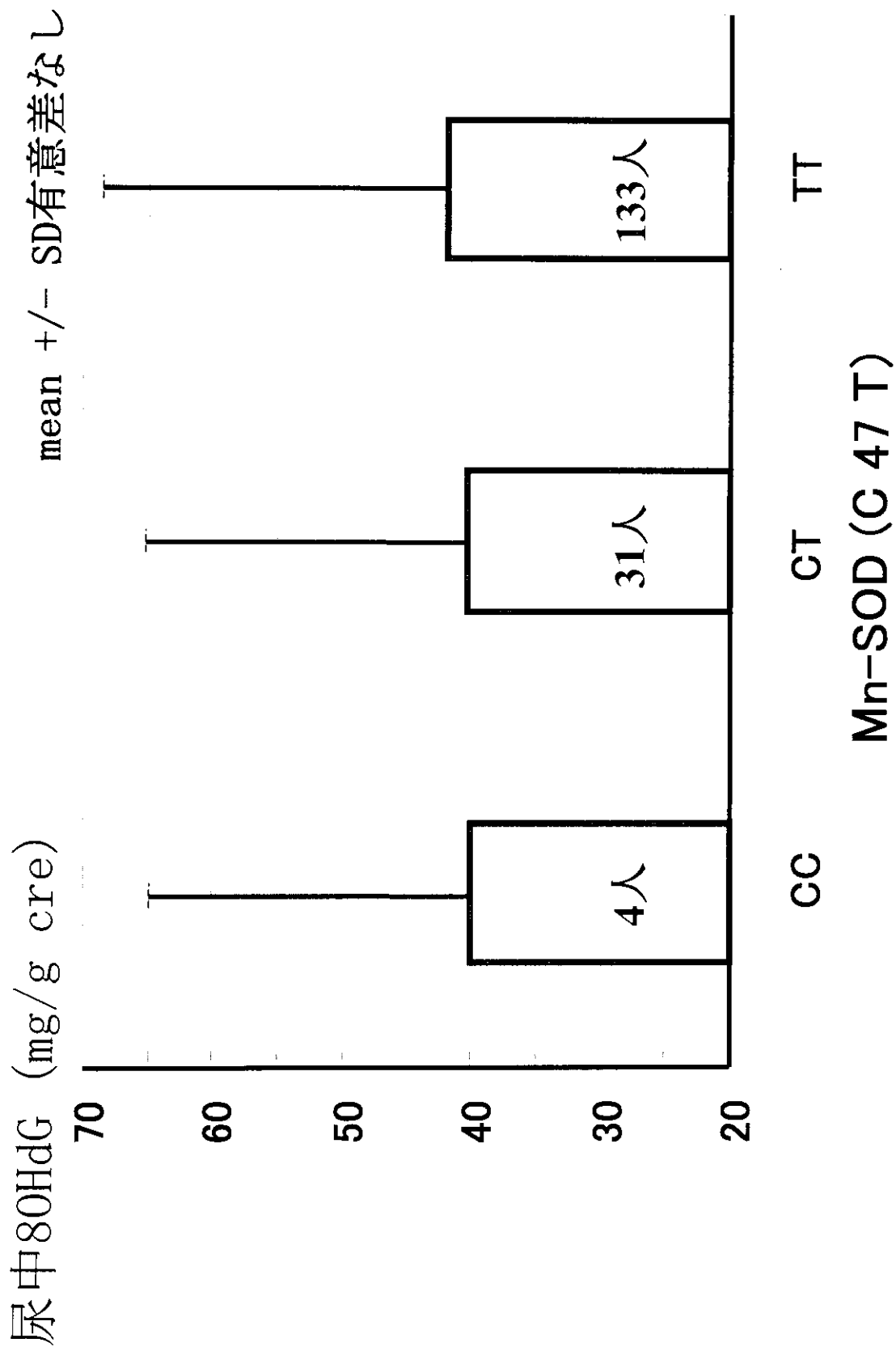


図13 : NADH/NADPH oxidase の遺伝子多型による
尿中8OHdGの比較

尿中8OHdG ($\mu\text{g/g cre}$) mean \pm SD, 有意差なし

