

氏名（本籍）	おおはし ゆうき 大橋 勇紀（群馬県）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	博第 325 号
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 17 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	健常集団における無症候性高尿酸血症と腎機能の関連性に対する尿酸トランスポーター ABCG2 の修飾的效果
論文審査委員	（主査）教授 市田 公美 教授 野水 基義 教授 井上 勝央

## 論文内容の要旨

### 第 1 章 緒論

慢性腎臓病（CKD）は慢性的な腎障害や腎機能低下を包括的に捉えた疾患概念であり、本邦では人口構成の高齢化によって著明に増加している。腎機能は加齢によるネフロン数の喪失によって徐々に低下していくが、その低下速度は食生活などの環境因子、遺伝因子や合併する疾患によって修飾される。CKD との関連性が報告されている疾患の 1 つに高尿酸血症が挙げられる。高尿酸血症による最も典型的な腎障害は痛風腎であり、腎臓の尿細管管腔内や間質に尿酸塩が析出することで腎実質が障害される。加えて、高尿酸血症は尿酸塩の析出のみならず、血清尿酸値（SUA）の上昇それ自体が CKD 発症・進行につながる可能性がある。すなわち、尿酸自体の作用や SUA の上昇によるレニン-アンジオテンシン系の亢進を介して血液内皮細胞の炎症や組織の繊維化が惹起されることが指摘され、実際に多くの疫学研究からも SUA の上昇が腎予後不良を予測することが報告されている。一方、無症候性高尿酸血症への治療的介入については否定的な報告も散見され、無差別的な尿酸降下療法は一概に有益ではない可能性が示唆されている。

高尿酸血症に関する関連因子として、近年 ATP-binding cassette subfamily G member 2 (ABCG2) が注目されている。ABCG2 は腎臓・腸管において尿酸の排泄ポンプとして機能しており、特に腸管での尿酸排泄における責任分子である。ABCG2 の機能低下により腸管での尿酸排泄量が低下し、血清尿酸値の上昇を介した逆説的な腎尿酸排泄量の増加が認められている。このことは尿酸産生過剰型高尿酸血症と合わせ、「腎負荷型高尿酸血症」として新たに病型分類された。また ABCG2 は広範な基質認識性から代表的な尿毒症物質であるインドキシル硫酸も輸送し、ABCG2 機能低下によりその血漿濃度の上昇も認められている。

本研究では、無症候性高尿酸血症と腎予後の関連性において、ABCG2 の修飾的効果を検討するとともに、ABCG2 そのものが腎機能に与える影響も評価した。

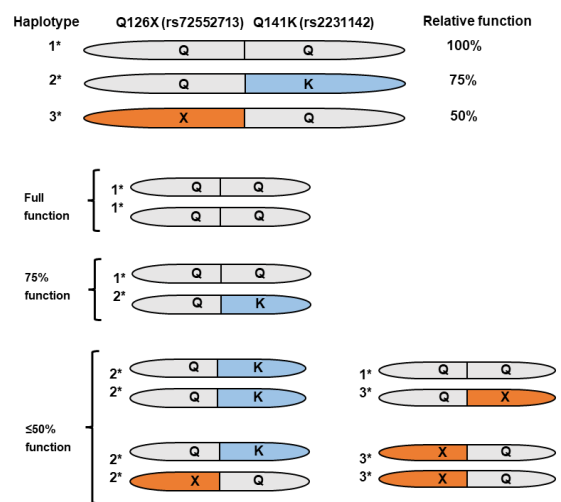
## 第 2 章 研究方法

**研究デザイン・対象者:** 本研究は 1,885 人の痛風のない正常腎機能保有者 (eGFR  $\geq$  60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>) を対象に、2007 年~2017 年にかけて参加者個人の eGFR を追跡した後ろ向きコホート研究である。本研究の除外基準として、腸炎患者、肝炎患者、腎症患者 (CKD 含む) が除外されている。参照したデータセットは年次健康診断に基づいており、参加者 (n = 1,885) ごとに 10 回以上 (追跡期間 9-10 年間) の eGFR の反復測定を行っている。この参加者の内、ベースラインにおいて無症候性高尿酸血症 (SUA > 7.0 mg/dL) が 311 人含まれていた。

**データ収集・遺伝子解析:** 本研究は年次で実施される健康診断データに基づいているため、臨床データの収集は 1 年単位で行っている。採血・採尿は 8-12 時間の絶食後に行った。参加者が服用している薬剤については、追跡終了時に行ったアンケートによって集計した。参加者から得られた血液サンプルから genomic DNA を抽出し、rs72552713 (c.376C > T, p.Q126X, risk allele: T) と rs2231142 (c.421C > A, p.Q141K, risk allele: A) を TaqMan probe PCR により genotyping を行った。p.Q126X は ABCG2 機能を欠失し、p.Q141K は ABCG2 機能を 50% 程度まで低下させる。この 2 つの一塩基多型 (SNPs) は

同一染色体上に存在せず、近傍であり linkage がないため、ABCG2 機能低下に対する独立因子とみなすことができる。本研究では、この 2 つの SNPs の組み合わせにより、研究参加者の ABCG2 機能を 100%、75%、 $\leq$ 50% にカテゴリー分類した (Fig. 1)。

**統計学的解析:** 本研究では、腎予後不良のサロゲートエンドポイントとして、追跡期間の eGFR slope (mL/min/1.73 m<sup>2</sup>/year) と eGFR 変化率 (%) を設定した。eGFR slope は最小二乗法に基づく混合効果 (LME) モデルによって算出した。LME モデルは、固定効果として時間経過、無症候性高尿酸血症または推定 ABCG2 機能を、変量効果としてランダム切片とランダム勾配を設定した。eGFR slope の評価として、反復測定された eGFR における固定効果の交互作用を確認した。共変量は多重ロジスティック回帰によって propensity score に変換し、optimal matching によって調整した。100%、75%、 $\leq$ 50% と段階的に区分された推定 ABCG2 機能と連続変数との関連性については two-tailed Jonckheere-Terpstra test、名義変数 (2 値変数) との関連性については Cochran-Armitage trend tests によって傾向検定



**Fig. 1.** Estimation of ABCG2 function using genotype combination of two common single nucleotide polymorphisms.

を行った。すべての解析の有意水準は 5%, optimal matching のキャリパー幅はロジット変換した propensity score の標準偏差に 0.20 を乗じた値を設定した。

### 第 3 章 結果

**ベースラインでの臨床特性評価:** 本研究参加者 1,885 人の平均年齢は  $33.1 \pm 9.0$  歳, 男性比率は 85.4%, 平均追跡期間は  $9.8 \pm 0.4$  年, ベースラインでの eGFR は  $98.0 \pm 19.6$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup> (eGFR  $\geq 90$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, n = 1170; eGFR < 90 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, n = 715) (mean  $\pm$  standard deviation) であった。本研究に登録された参加者の無症候性高尿酸血症の有病率は 16.5% (311/1,885 人) であり, そのうち 72.7% (226/311 人) は SUA 7.1-8.0 mg/dL と比較的軽症例であった。リクルート時に集計した個人回答型アンケートから, 尿酸降下薬を服用していたのは 99 人 (5.3%) であり, このうち 37 人の服用者は治療目標値 (SUA < 6.0 mg/dL) に到達していた。登録された参加者 (n = 1,885) の p.Q126X, と p.Q141K の MAF は, それぞれ 1.7% と 28.7% であった。

**腎機能低下と無症候性高尿酸血症との関連解析:** 経時的な腎機能低下と無症候性高尿酸血症との関連性を検討するため, ABCG2 未分類, ABCG2 カテゴリーとして 100%, 75%,  $\leq 50\%$  の計 4 つのサブグループで CKD stage ごとに解析した (Fig. 2). 共変量として年齢, 性別, BMI, ベースライン eGFR で調整した。推定 ABCG2 機能で未分類, または推定 ABCG2 機能 100%, 75% カテゴリーにおける eGFR の経時的な低下速度は無症候性高尿酸血症群, 正常 SUA 群間で統計的な有意差を認めなかった (Fig. 2-a, b). 推定 ABCG2 機能  $\leq 50\%$  カテゴリーにおいて, CKD stage G2 (eGFR: 60-89 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>) では無症候性高尿酸血症は正常 SUA と比較して eGFR slope が大きく, 有意に eGFR 低下を加速した (p for interaction = 0.027, Fig. 2-b).

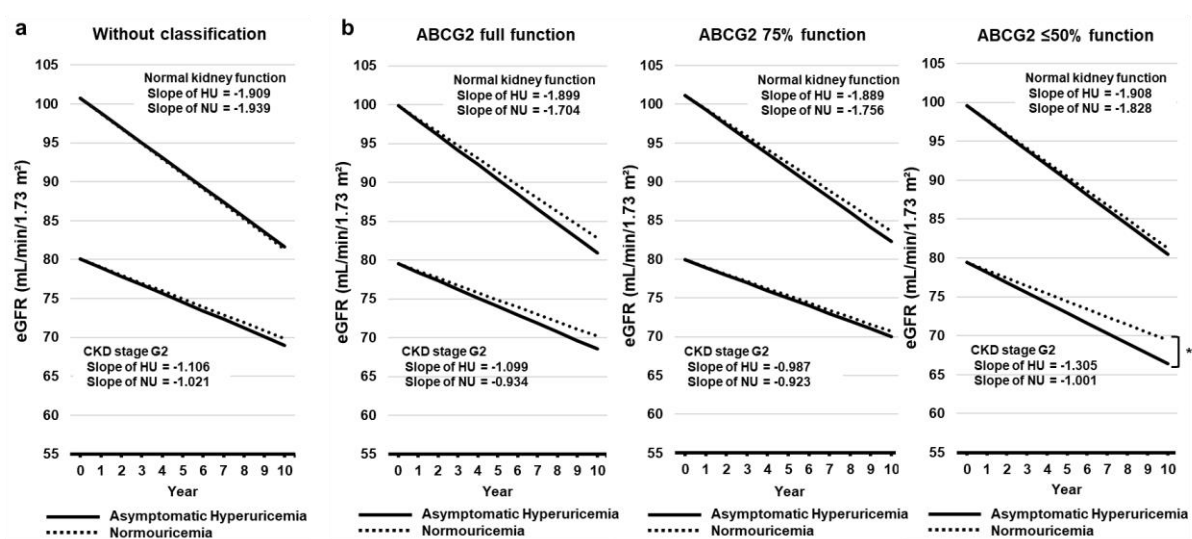


Fig. 2. Comparison of eGFR decline between asymptomatic hyperuricemia and normouricemia with and without classification by ABCG2 estimation. Abbreviations: HU, asymptomatic

hyperuricemia; NU, normouricemia. (a) eGFR declines in asymptomatic hyperuricemia and normouricemia patients without classification by estimated ABCG2 function. (b) A comparison of eGFR decline between asymptomatic hyperuricemia and normouricemia with classification by estimated ABCG2 function ( $p^*$  for interaction = 0.027).

腎機能低下と ABCG2 機能との関連解析: 腎機能低下に対する ABCG2 の修飾効果を検討するため、登録された参加者 (n = 1,885) を SUA (cut-off point: 6.0 mg/dL) とベースライ

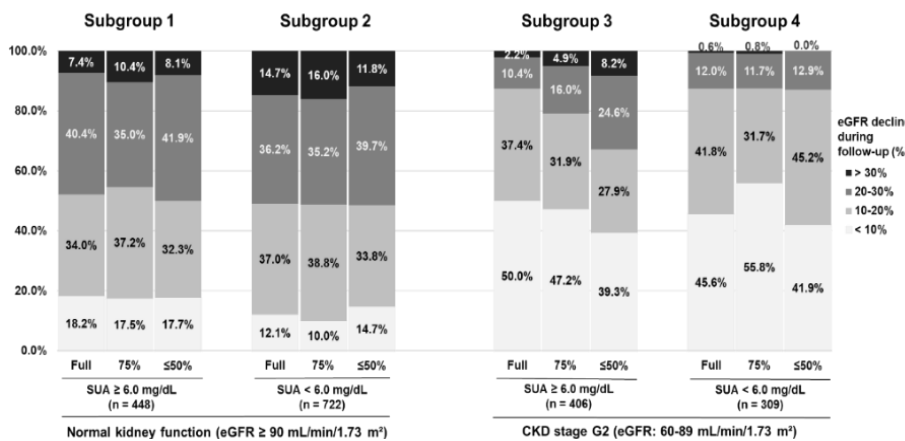


Fig. 3. Changes of eGFR during the observational period.

ンの CKD stage から 4 つのサブグループに分類した (Fig. 3). eGFR 60-89 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, SUA ≥ 6.0 mg/dL のサブグループにおいて、追跡開始から終了時にかけて eGFR 低下率が 20% を超えていた

割合は、推定 ABCG2 機能の低下に比例して増加し、推定 ABCG2 機能が 100%, 75%, ≤50% でそれぞれ 12.6%, 20.9%, 32.8% であった ( $p$  for trend < 0.001). 感度分析として算出した eGFR slope においても同様の比例関係を認め、推定 ABCG2 機能が 100%, 75%, ≤50% でそれぞれ -0.988 ± 0.040, -1.076 ± 0.043, -1.148 ± 0.069 (mL/min/1.73 m<sup>2</sup>/year, mean ± SEM) であった.

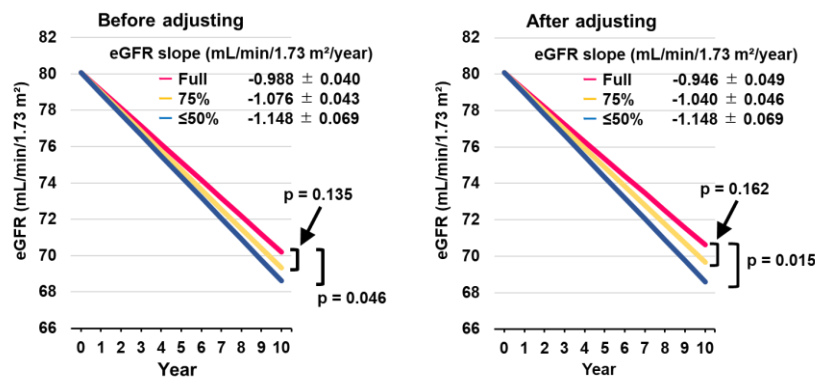


Fig. 4. Evaluation of the association between ABCG2 function and age-dependent eGFR decline before and after matching using propensity scores.

ABCG2 は強力な SUA 関連因子であるため、SUA を含む共変量調整 (年齢, 性別, BMI, eGFR, SUA) を行い、eGFR の変動を再度追跡した。共変量調整後では、ABCG2 機能 100%, 75%, ≤50% カテゴリーの eGFR slope はそれぞれ -0.946 ± 0.049, -1.040 ± 0.046, -1.148 ± 0.069 (mL/min/1.73 m<sup>2</sup>/year, mean ± SEM) であった。

#### 第 4 章 考察

本研究結果から、ABCG2 の ≤50% 機能低下と無症候性高尿酸血症 (SUA > 7.0 mg/dL) が

共存する CKD stage G2 サブグループにおいて、腎機能の低下が加速する可能性が示唆された。更に、SUA を痛風の治療目標値である 6.0 mg/dL にサブグループを拡大した際も ABCG2 の腎機能への影響が明らかであった。本研究の結果は高度な ABCG2 機能の低下は高尿酸血症による腎障害の修飾因子となりうることを示唆している。またベースラインでの SUA の補正に関わらずこの腎機能低下の加速が残存したことを考慮すると、ABCG2 機能低下は SUA の上昇のみならず、尿中尿酸排泄量の増加や尿毒症物質の蓄積など間接的な機序によって早期 CKD 発症・進行を促進しうることを示唆する結果であった。しかしながら研究限界として、本研究のデザインは一般的な健康診断データを用いた後ろ向きコホート研究であるため、尿中尿酸排泄量や血中インドキシル硫酸の濃度は測定できていない。従って、将来的には本結果を実証するために、これらのデータを捕捉した検証用の二次的コホートが必要である。

これまで、国際的に軽度の無症候性高尿酸血症は医学的治療を要しないとされてきたが、高度 ABCG2 機能低下例についてはその限りではないことが示唆された。本申請論文で示された新規知見は、今後の腎/尿酸関連の疫学研究において ABCG2 の重要性を提起するとともに、無症候期の高尿酸血症への治療的介入の意義を議論する上で重要なエビデンスとなりうるものである。

#### 【研究結果の掲載誌】

Y. Ohashi, et al. 他 11 名, American Journal of Kidney Diseases, 81(2), 134-144 (2022).

## 【論文審査の結果の要旨】

本申請論文は、無症候期における高尿酸血症とその腎予後について、尿酸トランスポーターとして知られる ATP-binding cassette subfamily G member 2 (ABCG2) の遺伝的観点から調査した疫学研究である。ABCG2 の機能低下 SNPs は痛風・高尿酸血症患者の 8 割に認められ、血清尿酸値の上昇に大きく関与している。近年では、代表的な尿毒症物質であるインドキシル硫酸の排泄にも関与していることが報告されている。本研究は、健康診断受診者 1,885 名を対象に、ABCG2 が無症候性高尿酸血症と腎機能との関連性に及ぼす効果、また ABCG2 機能低下そのものが腎機能に与える効果を検討した。第 1 章では緒論として、高尿酸血症と腎機能、ABCG2 についてのこれまでの疫学的な知見が、第 2 章では、本研究の実施に際する研究デザインが記載されている。

第 3 章の腎機能低下と無症候性高尿酸血症との関連解析では、ABCG2 機能が正常および 75%低下例において、無症候性高尿酸血症と正常尿酸値との間に有意な関連性を認めなかった。一方、ABCG2 機能が 50%以下に低下した例では、無症候性高尿酸血症群では正常尿酸群と比較して、CKD stage G2 において、腎機能低下速度が有意に加速した。このことは、ABCG2 が無症候期の高尿酸血症とその腎予後において、修飾的な効果を及ぼしていることを示している。この結果は、国際的に無症候期の高尿酸血症は積極的治療介入を要しないと考えられてきたが、ABCG2 機能低下例についてはその限りではないことを示唆するものである。同章の腎機能低下と ABCG2 機能との関連解析では、血清尿酸値 (cut-off point: 6.0 mg/dL) と CKD stage に基づいたサブグループを作成し、それぞれのサブグループで eGFR の変動を追跡した。このサブグループ解析において、血清尿酸値 6.0 mg/dL 以上かつ CKD stage G2 のサブグループで、ABCG2 機能低下に伴って観察期間中に eGFR が大きく低下している対象者の割合が高いことが示された。また、このサブグループにおいて年齢、性別、BMI、ベースライン eGFR に加えて血清尿酸値も補正したところ、ABCG2 機能低下による腎機能低下への修飾効果が残存した。上述の結果から、ABCG2 機能低下が腎機能の低下を加速するメカニズムとして、血清尿酸値の上昇以外の機序を介することが示唆される。

第 4 章では、上述の想定機序の考察として、インドキシル硫酸の他、腸管からの尿酸排泄低下を介した逆説的な尿細管への尿酸負荷の可能性を記述している。また、本研究結果の臨床適応性についても十分に議論され、従来高尿酸血症によると考えられてきた腎障害の一部は、ABCG2 機能低下によって説明できる可能性を提示している。

以上、大橋勇紀氏の論文は、今後の腎/尿酸関連の疫学研究において ABCG2 の重要性を提起するとともに、無症候期の高尿酸血症への治療的介入の意義を議論する上で重要なエビデンスとなりうるものである。よって、本申請論文は博士 (薬学) の学位論文として十分な価値を有するものと認める。