



Influence of UGT1A1 Genetic Variants on Free Bilirubin Levels in Japanese Newborns: A Preliminary Study

花房, 宏昭

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2024-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8868号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100490093>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学 位 論 文 の 内 容 要 旨

Influence of *UGT1A1* Genetic Variants on Free Bilirubin Levels
in Japanese Newborns: A Preliminary Study

日本人新生児の遊離ビリルビン値における *UGT1A1* 遺伝子バリエントの影響：予備的
研究

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
内科系講座小児科学分野
(指導教員：野津寛大教授)

花房 宏昭

【研究背景】

新生児黄疸は通常は治療を必要としないが、生理的範囲を逸脱する場合にはビリルビン脳症を起こし神経学的後遺症を残すことがある。新生児黄疸の管理は、総ビリルビン (TB) によって行われてきたが、比較的軽度の高 TB 血症においても神経学的後遺症を引き起こすことが報告されている。アルブミン (Alb) と結合していない間接ビリルビンである遊離ビリルビン (Bf) は血液脳関門を通過するためビリルビン脳症を予測するためのより重要なマーカーであると考えられている。ビリルビンはグルクロン酸抱合により水溶性になり体外に排泄されるが、このプロセスは、ウリジン二リン酸 (UDP) グルクロン酸転移酵素によって行われる。UDP グルクロン酸転移酵素には多くの種類が知られているが、ビリルビンのグルクロン酸抱合は *UGT1A1* 遺伝子にコードされる UDP グルクロン酸転移酵素 1A1 によって触媒される。これまでに *UGT1A1* 遺伝子のバリエーションの内、c.211G>A とプロモーターの TATAA エLEMENT の TA の数の変化 : (TA)₆>(TA)₇ が TB 値に関与しているという複数の報告が存在しているが、ビリルビン脳症のより直接的なリスク因子である Bf 値との関連については知られていない。そこで本研究では *UGT1A1* 遺伝子のバリエーションと Bf 値の直接的な関連の有無を検討するために検討を行った。

【方法】

2010年4月1日から2018年12月31日に神戸大学医学部附属病院総合周産期母子医療センターに入院した児の内、臨床データ（在胎週数、出生体重、性別、アプガースコア）、検査値（Bf、TB、直接ビリルビン（DB）、Alb）、*UGT1A1* 遺伝子のバリエントデータ（c.211G>A、(TA)₆>(TA)₇）を収集できた児を後方視的に検討した。遺伝性疾患もしくは染色体疾患のある児は除外した。また、DBが17.1 μ mol/L 以上の場合、Bf 値の測定が不正確になるため、DBがこの値を超える児は除外した。

統計解析として、対象者を Bf 値が 1.0 μ g/dL 以上の高 Bf 群と 1.0 μ g/dL 未満の非高 Bf 群に分けた。2 群間の比較は、連続変数に対してはマンホイットニーの U 検定、二値変数に対しては Fisher の正確検定を行った。高 Bf 群に対する 2 つのバリエントの影響を検討するためにロジスティック回帰分析を行い、野生型アリルに対するバリエントアリルにおけるオッズ比とその 95%信頼区間（CI）を算出した。加えて高 Bf 血症に影響を及ぼし得る交絡因子として、在胎週数、性別、アルブミン値、新生児仮死、他方の *UGT1A1* 遺伝子のバリエントで調整した調整オッズ比及び、その 95%CI を産出した。 $p<0.05$ を統計的に有意であるとした。

【結果】

501 例の新生児が選択基準を満たした。このうち、9 例が遺伝性疾患及び染色

体疾患のため除外され、8 例が DB 高値のため除外された。残りの 484 例の内、77 例が高 Bf 群に割り当てられ、407 例が非高 Bf 群に割り当てられた。両群の比較では帝王切開の割合、出生体重、在胎週数、超早産児の割合、Bf 値、TB 値、DB 値は高 Bf 群で有意に高く、生後 1 分でのアプガースコアが 7 未満であった児の割合と Alb 値は高 Bf 群で有意に低かった。性別、生後 5 分でのアプガースコアが 7 未満であった児の割合、Bf 値が最高値であった時の日齢には有意差はなかった。

c.211G>A における遺伝型の割合は高 Bf 群では GG が 54.5%、GA が 32.5%、AA が 13.0%であり、非高 Bf 群では GG が 70.5%、GA が 26.5%、AA が 2.5%であった。それぞれのアリル頻度は高 Bf 群では G アリルが 70.8%、A アリルが 29.2%であり、非高 Bf 群では G アリルが 83.8%、A アリルが 16.2%であった。また(TA)6>(TA)7 における遺伝型の割合は、高 Bf 群では(TA)6(TA)6 が 90.9%、(TA)6(TA)7 が 9.1%、(TA)7(TA)7 が 0%、非高 Bf 群では(TA)6(TA)6 が 77.1%、(TA)6(TA)7 が 21.6%、(TA)7(TA)7 が 1.2%であった。それぞれのアリル頻度は、高 Bf 群では(TA)6 が 95.5%、(TA)7 が 4.5%、非高 Bf 群では(TA)6 が 88.0%、(TA)7 が 12.0%であった。いずれも両群で有意差を認めた。

ロジスティック回帰分析では c.211G>A において、A アリルは G アリルと比較して高 Bf 血症のリスク上昇と優位に関連していた (OR : 2.02、95%CI :

1.38 - 2.98)。この傾向は調整後も同様であり、A アリルは G アリルと比較して高 Bf 血症のリスク上昇と優位に関連していた (adjusted OR: 1.80, 95% CI: 1.19–2.72)。一方で、(TA)6>(TA)7 では、(TA)7 アリルは(TA)6 アリルと比較して高 Bf 血症のリスク低下と優位に関連していた (OR : 0.342、95%CI : 0.155 - 0.757)。この傾向は調整後も同様であり、(TA)7 アリルは(TA)6 アリルと比較して高 Bf 血症のリスク低下と優位に関連していた (adjusted OR : 0.417、95%CI : 0.183 - 0.952)。

【考察】

本研究は、高 Bf 血症を呈した新生児における 2 種類の *UGT1A1* 遺伝子のバリエーション (c.211G>A、(TA)6>(TA)7) のアリル頻度を同定した初めての研究である。また、c.211G>A における A アリルは高 Bf 血症の有意なリスク因子であったのに対し、(TA)6>(TA)7 において (TA)7 アリルは高 Bf 血症の有意な予防因子であった。

これまでに、血清 Bf 値を上昇させるいくつかのリスク因子が同定されておりアルブミンの低値や、早産児、遊離脂肪酸、抗生物質、イブプロフェン、感染症、低体温、低酸素、アシドーシス、過呼吸、新生児仮死などが知られている。しかし、高 Bf 血症に関与する遺伝的因子に関する報告はない。本研究では、*UGT1A1* 遺伝子の 2 つの主要なバリエーションが、既知のリスク因子で調整し

た後でも、高 Bf 血症発症のリスク因子及び、予防因子として働くことを初めて示した。

本研究では、c.211G>A における A アリルが高 Bf 血症発症の有意なリスク因子であることを示した。このアリルは東アジア地域で一般的にみられることが報告されており、高 TB 血症のリスク因子であることが報告されている。また、G と A のヘテロ接合体における肝生検組織を用いた解析ではビリルビンに対する UDP グルクロン酸転移酵素の活性が低下していることが知られている。今回の結果は、c.211G>A における A アリルが高 Bf 血症の直接的なリスク因子であることを新たに示したものであり、ビリルビン脳症発症の重要なリスク因子であると考えられる。一方、(TA)6>(TA)7 における (TA)7 アリルは高 Bf 血症に対する予防因子であった。(TA)7 アリルに関しては、アジア圏以外からは高 TB 血症のリスク因子であるという報告がある一方で、アジア圏からは予防因子であるという複数の報告がある。本研究は、日本人において (TA)7 アリルが高 Bf 血症に対して保護的に働くことを初めて示したものであり、この結果はアジアからの高 TB 血症に関する報告と一致している。高 TB 血症に対するこのバリエーションの作用が人種によって異なる理由は明らかにされていないが、他の疾患においても人種によって同一アリルが異なった作用を及ぼすという現象が観察されており、それぞれのアリルに連鎖している他のバリエーションや

環境要因などが影響している可能性が考えられた。今回の結果は日本人において、(TA)7 アリルが高 Bf 血症に保護的に働くことを示したものであり、ビリルビン脳症における予防因子となると考えられた。

本研究の Limitation として、第一に、本研究は後方視的研究であり、*UGT1A1* 遺伝子のバリエントは残余検体が入手できた症例でのみ決定することができていた。したがって、期間内に入院したすべての症例について遺伝子解析を行うことはできておらず、選択バイアスが生じている可能性がある。将来的には、臍帯血や組織など非侵襲的に採取した検体を用いて、入院した新生児全員を対象とした前向き研究を行う予定である。第 2 に、今回検討した 2 つの *UGT1A1* 遺伝子のバリエントに加えて、いくつかの他の *UGT1A1* 遺伝子のバリエント及び *SLCO1B1*、*G6PD*、*SLCO1B3* などの他の遺伝子のバリエントが、ゲノムワイド関連解析において高 TB 血症と関連することが示されている。したがって、今後、他の関連遺伝子を加えて調べることによって、*UGT1A1* 遺伝子のバリエントと高 Bf 血症との真の関係を調べる必要がある。

第 3 に、本研究では高 Bf 血症の原因となることが知られている在胎週数、アルブミン値、及び新生児仮死について調整したが、*UGT1A1* 活性に影響を及ぼす可能性のある薬剤の影響については検討できなかった。したがって、これらの要因を含めた今後の研究が必要である。最後に、日本以外の国では日常臨床

で Bf 値を測定することができないため、Bf 値の基準値は世界的に明確に決定されていない。したがって、本研究で用いた高 Bf 血症の定義 ($Bf \geq 1.0 \mu\text{g/dL}$) が、ビリルビン脳症のリスクの上昇を反映しているかどうかは、依然として不明である。高ビリルビン血症の新生児に対する Bf 測定を含む治療基準を検討することを目的とした現在進行中の多施設前向きコホート研究の結果を待ちたい。

【結語】

本研究は、日本人新生児において、c.211G>A における A アリルがビリルビン脳症の直接のリスクである高 Bf 血症の有意なリスク因子であり、(TA)6>(TA)7 における (TA)7 アリルが有意な予防因子であることを初めて示した。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 3363 号	氏 名	花房 宏昭
論文題目 Title of Dissertation	Influence of <i>UGT1A1</i> Genetic Variants on Free Bilirubin Levels in Japanese Newborns: A Preliminary Study 日本人新生児の遊離ビリルビン値における <i>UGT1A1</i> 遺伝子バリエーションの影響：予備的研究		
審査委員 Examiner	主 査 久保 亮治 Chief Examiner 副 査 尾藤 祐子 Vice-examiner 副 査 出口 雅士 Vice-examiner		

（要旨は1,000字～2,000字程度）

【研究背景/目的】

新生児黄疸は通常、治療を必要としないが、生理的範囲を逸脱する場合、ビリルビン脳症のリスクとなるため治療を要する。新生児黄疸の管理は歴史的に総ビリルビン (TB) 値によって行われているが、軽症の高 TB 血症においても神経学的後遺症を呈する例が報告されている。間接ビリルビンの内、アルブミンと結合していないビリルビンである遊離ビリルビン (Bf) は血液脳関門を通過するためビリルビン脳症の発症を直接反映するマーカーと言われている。ビリルビンはグルクロン酸抱合を受けることで水溶性となり排泄されるが、ビリルビンのグルクロン酸抱合は、*UGT1A1* 遺伝子にコードされる、UDP-glucuronosyltransferase 1A1 に触媒される。これまでに *UGT1A1* 遺伝子の 2 つのバリエーション (c.211G>A とプロモーターの TATAA エLEMENT の TA の数の変化 : (TA)₆>(TA)₇) が TB 値に関与しているという報告があるが、ビリルビン脳症に直接関与するとされる Bf 値と遺伝学的要因の関連について検討した報告はなく研究を実施した。

【方法】

2010 年 4 月 1 日から 2018 年 12 月 31 日に神戸大学医学部附属病院総合周産期母子医療センターに入院した児の内、臨床データ (在胎週数、出生体重、性別、アプガースコア) と検査値 (Bf 値、TB 値、直接ビリルビン (DB) 値、Alb 値)、*UGT1A1* 遺伝子バリエーションデータ (c.211G>A、(TA)₆>(TA)₇) を収集できた児を後方視的に検討した。遺伝性疾患もしくは先天性疾患のある児は除外した。また Bf の測定に影響があるため、DB 値が 17.1 μ mol/L (1mg/dL) 以上の児も除外した。対象者を Bf 値が 1 μ g/dL 以上の高 Bf 群と、1 μ g/dL 未満の非高 Bf 群に割り付けた。2 群間の比較はマン・ホイットニーの U 検定及び Fisher の正確検定で行った。また、ロジスティック回帰分析による単変量解析を行い、遺伝型及びアレルにおいて、野生型に対するそれぞれのバリエーションの高 Bf 血症のオッズ比を算出した。加えて、Bf 値に影響する既知の因子である、在胎週数、性別、アルブミン値、新生児仮死の有無ともう一方のバリエーションで調整した多変量解析を実施し調整オッズ比を算出した。p 値は 0.05 未満を統計的に有意とした。

【結果】

501 人が対象となり、うち 9 人が先天性疾患、8 人が直接ビリルビン高値で除外された。484 人の内 77 人が高 Bf 群、407 人が非高 Bf 群に割り付けられた。両群の臨床データでは出生体重、在胎週数、Bf の頂値、Bf が頂値の時の TB 値、Bf が頂値の時の DB 値は、高 Bf 群で有意に高く、帝王切開で出生した児の数、在胎 28 週未満の児の数、アプガースコアの 1 分値が 7 未満の児の数、Bf が頂値の時のアルブミン値は、非高 Bf 群で有意に高かった。

両群の遺伝型は、c.211G>A において、高 Bf 群では GG の遺伝型をもつ参加者が 42 人 (54.5%)、GA が 25 人 (32.5%)、AA が 10 人 (13.0%) であり、非高 Bf 群では GG が 287 人 (70.5%)、GA が 108 人 (26.5%)、AA が 12 人 (2.95%) であり、両群で有意差を認めた ($p<0.001$)。 (TA)6>(TA)7 においては、高 Bf 群では、(TA)6(TA)6 が 70 人 (90.9%)、(TA)6(TA)7 が 7 人 (9.1%)、(TA)7(TA)7 が 0 人 (0%) であり、非高 Bf 群では (TA)6(TA)6 が 314 人 (77.1%)、(TA)6(TA)7 が 88 人 (21.6%)、(TA)7(TA)7 が 5 人 (1.2%) であり、両群で有意差を認めた ($p=0.017$)。両群のアリル頻度は、c.211G>A において高 Bf 群では G アリルが 109 (70.8%)、A アリルが 45 (29.2%) であり、非高 Bf 群では G アリルが 682 (83.8%)、A アリルが 132 (16.2%) であり、両群で有意差を認めた ($p<0.001$)。 (TA)6>(TA)7 において高 Bf 群では (TA)6 アリルが 147 (95.5%)、(TA)7 アリルが 7 (4.5%) であり、非高 Bf 群では (TA)6 アリルが 716 (88.0%)、(TA)7 アリルが 98 (12.0%) であり、両群で有意差を認めた ($p=0.044$)。

c.211G>A におけるロジスティック回帰分析では、G アリルに対して、A アリルは有意な高 Bf 血症のリスク因子であり (オッズ比 : 2.02、95%信頼区間 : 1.38-2.98)、調整後も同様の結果であった (調整オッズ比 : 1.80、95%信頼区間 : 1.19-2.72)。また遺伝型での解析では GG の遺伝型に対して AA の遺伝型は有意な高 Bf 血症のリスク因子であり (オッズ比 : 5.69、95%信頼区間 : 2.32-14.0)、調整後も同様の結果であった (調整オッズ比 : 5.15、95%信頼区間 : 1.95-13.6)。 (TA)6>(TA)7 においては、(TA)6 アリルに対して (TA)7 アリルは有意な高 Bf 血症の予防因子であり (オッズ比 : 0.342、95%信頼区間 : 0.155-0.757)、調整後も同様の結果であった (調整オッズ比 : 0.417、95%信頼区間 : 0.183-0.952)。また遺伝型での解析では (TA)6(TA)6 の遺伝型に対して (TA)6(TA)7 もしくは (TA)7(TA)7 の遺伝型は有意な高 Bf 血症の予防因子であり (オッズ比 : 0.338、95%信頼区間 : 0.150-0.759)、調整後も同様の結果であった (調整オッズ比 : 0.426、95%信頼区間 : 0.183-0.989)。

本研究は遺伝学的要因が、ビリルビン脳症のリスクを直接反映する Bf 値と関連することを初めて示した研究であり、ビリルビン脳症の発症の予測やその機序について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。

よって、本研究者は、博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。