



Association of the PCK2 gene polymorphism with new-onset glucose intolerance in Japanese kidney transplant recipients

Yokoyama, Naoki

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2018-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7254号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007254>

※ 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

Association of the *PCK2* gene polymorphism with new-onset glucose intolerance in Japanese kidney transplant recipients

日本人腎移植患者における PCK2 遺伝子多型と腎移植後新規発症の耐糖能異常との関連

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
腎泌尿器科学
(指導教員：藤澤 正人教授)

横山 直己

【背景】

近年、免疫抑制療法の進歩により急性拒絶反応の発生率が低下し、腎移植後移植片の生存率は劇的に改善された。その結果心臓血管疾患（CVD）は特に長期に生着している腎移植レシピエントにおいて、移植片喪失にもつながる新たな問題となっている。移植後新規発症糖尿病（NODAT）は腎移植後患者の重大な合併症の1つである。NODATは長期グラフト機能に影響することが知られており、またCVDの主要な危険因子として報告されている。また糖尿病耐糖能障害（IGT）と診断された患者でも通常の耐糖能を有する患者よりもCVDの発症率が高いとも言われている。したがって IGT の危険因子の特定は腎移植後における長期の生存率、生着率を改善する鍵となる可能性がある。グルココルチコイドは腎移植後の免疫抑制療法として使用される主要な免疫抑制剤である。しかしながらグルココルチコイドは肝臓の糖新生を阻害するだけでなく脂肪組織における脂肪分解を阻害することで、インスリン抵抗性を誘導し耐糖能異常をもたらす。グルココルチコイドに起因するこのインスリン抵抗性は、NODATの主要な危険因子の一つとみなされている。また最近の研究では、遺伝的要因が2型糖尿病の発症に関与することが示されている。例えば肝臓および他組織におけるグルコース代謝を担う遺伝子の多型は2型糖尿病の発症に影響する。しかし、腎移植後のNODATまたはIGTの発生に対する遺伝的要因の影響についてはほとんど知られていない。

【目的】

今回腎移植後患者の糖代謝に関与する蛋白質をコードする遺伝子を解析し、その一塩基多型（SNP）と腎移植後の耐糖能悪化との関連を検討した。これによりSNPなど遺伝的要因が腎移植後のNODATまたはIGT発症の危険因子となり得るか検討することを本研究の目的とした。

【方法】

2007年から2015年の間に神戸大学病院で施行された腎移植患者110例のうち、移植前に糖尿病と診断されていた患者11例、15歳未満の患者11例、研究の参加に同意を得られなかった患者32例をこの研究から除外した。また75g経口耐糖能試験（75gOGTT）を腎移植前および腎移植後12ヶ月後に施行し、腎移植前の75gOGTTでIGTまたは糖尿病と診断された患者18例を除外した。最終的に腎移植前に正常耐糖能を有する38例の患者が本研究の対象となった。これら38例のうち、1年後の75gOGTTにおいて血漿グルコース120分値が140mg/dL以上の患者を新規発症耐糖能障害（NIGT）群、未満の患者を正常耐糖能（NOR）群

と定義した。全ての患者のゲノム DNA を末梢血単核細胞から抽出した。我々は糖代謝関連遺伝子として以下の 7 つの遺伝子を選び、その SNP から日本人に頻度の高い 8 種類を選択し解析した。PCK2 の rs4982856、SLC2A2 の rs1499821 および rs5398 は肝臓におけるグルコース代謝に関与する蛋白質をコードする遺伝子の SNP であり、また IGF2BP2、CDKN2A / B、HHEX、SLC30A8、および CDKAL1 における rs4402960、rs10811661、rs1111875、rs13266634 および rs7756992 は、他の組織におけるグルコース代謝に関連する遺伝子の SNP であった。患者背景因子および上記 SNP と耐糖能異常発症の関連を検討した

【結果】

75gOGTT におけるグルコース投与前および投与後 120 分での血漿グルコース平均値は、腎移植前では 74.5 ± 8.2 および 108.1 ± 19.0 mg / dL、腎移植後 12 か月では 85.2 ± 9.1 および 123.5 ± 30.0 mg / dL であり、両方の値に有意差が認められた。全 38 例の患者のうち 11 例が NIGT 群であり、27 例が NOR 群であった。ドナーおよびレシピエントの性別および年齢、透析期間、急性拒絶反応の有無、糖尿病の家族歴、カルシニューリン阻害剤の種類、移植後 12 か月までのメチルプレドニゾロンの総投与量で、NOR と NIGT 群の間の有意差は認めなかった。この研究に含まれた患者 38 例と日本人の母集団サンプルの間で、全ての SNP において遺伝子型分布の差異は認めなかった。PCK2 遺伝子の SNP である rs4982856 に関して、研究集団全体の遺伝子型の分布は T/T が 12 例 (31.6%)、T/C が 22 例 (57.9%)、C/C が 4 例であった。NIGT 群では、T/T が 7 例 (63.6%)、T/C が 4 例 (36.4%)、C/C が 0 例 (0%) であった。NOR 群では、T/T が 5 例 (18.5%)、T/C が 18 例 (66.7%)、C/C が 4 例であった。NIGT 群 11 例のうち 7 例で rs4982856 における遺伝子型が T/T であったが、NOR 群 27 例では 5 例のみがこの遺伝子型を有していた。rs4982856 における T 対立遺伝子の頻度は、NIGT 群で有意に高かった ($p=0.015$)。また rs4982856 における T 対立遺伝子のホモ接合性は耐糖能異常のリスクと有意に関連していた ($p=0.003$)。他の SNP は耐糖能異常のリスクと関連していなかった。

【考察】

透析療法と比較し腎移植は、腎臓機能を移植片で置き換えることにより CVD の危険因子を改善する。しかしながら免疫抑制療法により発症しうる NODAT および脂質異常症などは CVD の新たな危険因子となる。アメリカ心臓協会は最近、糖尿病や IGT の顕在化が CVD 関連の死亡率や罹患率を増加させる可能性があるとして報告している。したがって腎移植後の NODAT ま

たは IGT の予防は、CVD の発生率を低減させ、最終的に腎移植後の生着、生存率を改善するために重要である。

2 型糖尿病においては既に年齢、性別、肥満、家族歴などいくつかの危険因子が同定されており、またグルコース代謝に関与する蛋白質をコードする遺伝子の SNP を含む遺伝的要因も危険因子として同定されている。本研究では PCK2 遺伝子の SNP が腎移植後の IGT の発症と関連している可能性があることを示した。

同じ薬物に対する個々の反応の変動はしばしば多様な治療効果をもたらし、逆に一部の患者では薬物誘発性の有害事象に対する異なる感受性が生じることはよく知られている。そのため薬物代謝または生物学的活性を担う蛋白質をコードする遺伝子の SNP は、いくつかの疾患の予後および治療的介入の有効性の予測マーカーとして有用であり得る。

ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) は、オキサロ酢酸をホスホエノールピルビン酸に変換するリアーゼファミリーの酵素である。PEPCK には 2 つのアイソザイムがあり、細胞質型である PEPCK-C とミトコンドリア型である PEPCK-M がある。PCK2 遺伝子はミトコンドリアオキサロ酢酸をホスホエノールピルビン酸に変換する PEPCK-M をコードする。PEPCK-M は PEPCK-C と協力して基質やエネルギーの利用の変化に応じて糖新生や TCA サイクルを調整し、肝臓におけるグルコースと脂質代謝の調節に役割を果たすと言われている。したがって本研究で見られるように、PCK2 の変異は肝臓におけるインスリン抵抗性に影響し、結果として腎移植後の IGT の発症に関与していると考えられた。

【結論】

PCK2 遺伝子の SNP が腎移植後の耐糖能異常発症と相関することを示した。腎移植後の日本人において、PCK2 遺伝子の SNP である rs4982856 の T/T 遺伝子型は、T/C および C/C 遺伝子型よりもグルココルチコイドによる耐糖能異常発症のリスクが高い可能性がある。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲第 2799 号	氏 名	横山 直己
論文題目 Title of Dissertation	Association of the PCK2 gene polymorphism with new-onset glucose intolerance in Japanese kidney transplant recipients 日本人腎移植患者における PCK2 遺伝子多型と腎移植後新規発症の耐糖能異常との関連		
審査委員 Examiner	主 査 西 慎一 Chief Examiner 副 査 小川 瑛 Vice-examiner. 副 査 飯島 一誠 Vice-examiner		

(要旨は1, 0 0 0 字～2, 0 0 0 字程度)

背景と目的: 腎移植患者の移植後新規発症糖尿病(NODAT)あるいは耐糖能異常(IGT)は、レシピエントの心血管系疾患発症あるいは腎生着率に関与するリスク因子である。NODAT 発症に関わる危険因子として、糖尿病家族歴や男性、腎移植時の Body mass index 等の他、免疫抑制剤として投与されるグルココルチコイドがあげられる。また、最近では、糖産生酵素遺伝子である PCK2 遺伝子を含む糖代謝異常関連遺伝子の SNP と NODAT または IGT との関連も注目されている。本研究ではこの点を検討した。

対象と方法: 2007 年から 2015 年の間に神戸大学医学部附属病院で腎移植受け、術前に耐糖能異常がない症例 38 例を対象とした。腎移植後 1 年目に 75gOGTT を施行し、120 分血糖値が 140mg/dL 以上の患者を新規発症耐糖能異常(NIGT)と定義した。糖代謝異常に関連する 7 種の遺伝子から、日本人で頻度の高い 8 種類の SNP、PCK2 の rs 4982856、SLC2A2 の rs1499821、rs5398、IGF2BP2 の rs4402960、CDKN2A/B の rs10811661、HHEX の rs1111875、SLC30A8 の rs1326634 および CDKAL1 の rs7756992 に関して、NIGT 群と正常群で各 allele の出現頻度を比較し、NIGT に対するスリク因子を探索した。

結果: 38 症例の平均空腹時血糖値(74.5 ± 8.2 mg/dL vs. 108.1 ± 19.0 mg/dL)及び糖負荷 120 分値 (85.2 ± 9.1 mg/dL vs. 123.5 ± 30.0 mg/dL)は、移植前と比較し移植後 1 年目にはどちらも有意に上昇していた。38 症例の内、移植後 1 年目に NIGT と診断された症例は 11 例(28.9%)であった。残りは正常群とした。両群に年齢、性比、BMI、急性拒絶反応、DM 家族歴には差は認められなかった。7 種の遺伝子、8 種類の SNP に関する allele/genotype 分布と NIGT の関連を検討したところ、PCK2 遺伝子 rs4982856 の SNP、つまり TT vs. C/T+CC 群間に有意な関連性を認めた ($p=0.003$)。全例 38 例中 TT は 12 例(31.6%)、T/C22 例(57.9%)、C/C4 例(10.5%)で、NIGT 群 11 例では TT が 7 例(63.6%)、T/C4 例(36.4%)、C/C0 例(0.0%)であった。

考察: 糖代謝異常に関連する 7 種の遺伝子の中で、PCK2 の rs 4982856 に関しては、T allele を有することが移植後の新規耐糖能障害発症の危険因子であることが判明した。PCK2 遺伝子は、オキサロ酢酸をホスホエノールピルビン酸に変換するホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ(PEPCK)のうち、ミトコンドリア型である PEPCK-M をコードするが、PEPCK-M は糖新生や TCA サイクルを調整し肝臓における糖・脂質代謝に関与する。PCK2 の変異がステロイド投与の影響を受け、耐糖能異常を惹起した結果と推測した。

結論: 本研究は、PCK2 遺伝子の SNP と NIGT との関連を明らかにした。リスク因子を有するレシピエントの移植後免疫抑制薬やステロイド薬の早期調節対策に繋がる重要な知見を得たものとして、価値ある業績であると認める。よって本研究者は、博士(医学)の学位を得る資格があるものと認める。