

学位論文審査結果の報告書

氏 名 永田 知裕

生 年 月 日 平成 1 年 3 月 13 日

本 籍 (国 籍) 大阪府

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 医 第 1249 号

学位授与の条件
(博士の学位) 学位規程第5条該当

論 文 題 目

Single-nucleotide polymorphism of human concentrative nucleoside transporter and mizoribine absorption in treating childhood-onset nephrotic syndrome

小児ネフローゼ症候群でのミゾリビン吸収におけるヒト濃縮型核
酸トランスポーター (hCNT) 遺伝子の一塩基多型の関与

学位論文受理日 2017年 11月 10日

学位論文審査終了日 2018年 1月 18日

審 査 委 員 (主 査) 有馬 秀二

(副主査) 植村 天受

(副主査) 巽 信二

(副 査)

指 導 教 員 竹村 司

論文内容の要旨

【目的】

ミゾリビン (MZR) は小児ネフローゼ症候群に頻用されるが、年齢や体格が同じ児に同量を投与しても、血中濃度に違いがみられ、吸収に個体差があると考えられる。我々は、以前に MZR 吸収におけるヒト濃縮型核酸トランスポーター (hCNT) の関与について報告した。今回、MZR 吸収における hCNT 遺伝子の一塩基多型 (SNP) の関与について検討した。

【方法】

対象は当科で追跡している MZR 投与中または以前に投薬をうけたネフローゼ症候群の 53 例 (男子 35 例、女子 18 例) で、MZR 服用 2 時間後の血中濃度を測定した。SNP のデータベースである dbSNP より、hCNT1、2、3 遺伝子の SNPs のうち、日本人の頻度がわかっている hCNT1 (SLC28A1) G565A、hCNT2 (SLC28A2) C65T、hCNT3 (SLC38A3) A338G の 3 つを選択した。これらの SNP を解析し、hCNT 遺伝子の SNP と血中濃度の関係を検討した。

【結果】

体重当たりの MZR 投与量 (mg/kg) と MZR 血中濃度 ($\mu\text{g/ml}$) には正の相関 ($r=0.40$, $P=0.0029$) がみられた。5 例において、高用量 MZR を投与しても、MZR 血中濃度が有効域に上昇せず、再発し、MZR 吸収に個人差があると考えられた。MZR 血中濃度値 ($\mu\text{g/ml}$) は、hCNT1 が G/A : 2.95 (31 例)、A/A : 2.62 (7 例)、G/G : 3.42 (15 例)、hCNT2 が C/C : 3.04 (47 例)、C/T : 3.04 (6 例)、hCNT3 が A/A : 3.13 (46 例)、A/G : 2.42 (7 例) であった。hCNT1、hCNT2、hCNT3 のそれぞれの SNP の違いによる MZR 血中濃度の変化に統計学的な有意差はなかった (hCNT1 : $P=0.25$ 、hCNT2 : $P=0.99$ 、hCNT3 : $P=0.13$)。加えて、hCNT の各 SNP の組み合わせによる MZR 血中濃度 ($\mu\text{g/ml}$) の差を検討したが、G/A-C/C-A/A : 2.95 (24 例)、G/A-C/C-A/G : 2.75 (3 例)、G/A-C/T-A/A : 3.14 (4 例)、A/A-C/C-A/A : 2.88 (4 例)、A/A-C/C-A/G : 1.47 (2 例)、A/A-C/T-A/A : 3.77 (1 例)、G/G-C/C-A/A : 3.63 (12 例)、G/G-C/C-A/G : 2.88 (2 例)、G/G-C/T-A/A : 1.95 (1 例) における差はみられなかった ($P=0.38$)。

【考察】

MZR 血中濃度と各 SNP に統計学的に有意な関連性はなく、MZR 吸収における hCNT1 ~ 3 の SNP の影響が限定的であることが示された。健康な日本人の成人男性における MZR 吸収に関して、hCNT1 565-A/A 遺伝子は G/G 遺伝子よりも MZR の bio-availability は有意に低いとの報告がある。本研究で 11 歳未満の群と 11 歳以上 20 歳未満の群に分けて検討した。11 歳以上 20 歳未満の群で MZR 血中濃度は hCNT1 の A/A 群 (2 例) は G/G 群 (6 例) より低い傾向にあったが症例数が少なく、今後症例を増やして検討する必要がある ($P = 0.04$)。Bio-availability の個体差の一因として、年齢が考えられ、成人と比較して、小児における MZR 吸収は低年齢であるほど低いとの報告がある。今回の検討で MZR 血中濃度と hCNT の SNP に関連がみられなかった要因として、細胞外液量や hCNT の発現量や活性の年齢差などが考えられる。MZR が hCNT に取り込まれる際にはナトリウムが必要であり、イノシン酸が MZR 吸収を抑制することが知られている。食事内容に関する検討も必要と考えられる。

【結論】

MZR 血中濃度と各 SNP に統計学的に有意な関連性はなく、MZR 吸収における hCNT1 ~ 3 の SNP の影響が限定的であることが示された。今後は年齢による腸管 hCNT の発現量の差や食事内容と腸管吸収率、MZR 投与前の免疫抑制薬による影響を検討していく必要がある。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2018年 6 月 日 公表予定	博士学位論文
	Single-nucleotide polymorphism of human concentrative nucleoside transporter and mizoribine absorption in treating childhood-onset nephrotic syndrome	Acta Medica Kindai University Vol. 43 No. 1
	全 文	2018年 6 月 日 発行予定

論文審査結果の要旨

1) 論文内容の要旨

【目的】ミゾリピン (MZR) は小児ネフローゼ症候群の治療に頻用されるが、年齢や体格が同じ児に同量を投与しても血中濃度に違いがみられ、吸収に個体差があると考えられる。筆者らは以前にMZR吸収におけるヒト濃縮型核酸トランスポーター (hCNT) の関与について報告した。今回、MZR吸収におけるhCNT遺伝子の一塩基多型 (SNP) の関与について検討した。

【対象および方法】近畿大学医学部附属病院小児科で追跡しているMZR投与中または以前に投与を受けたネフローゼ症候群の53例 (男子35例、女子18例) を対象とし、MZR服用2時間後の血中濃度を測定した。SNPのデータベースであるdbSNPよりhCNT1, 2, 3遺伝子のSNPsのうち、日本人の頻度がわかっているhCNT1 (SLC28A1) G565A, hCNT2 (SLC28A2) C65T, hCNT3 (SLC38A3) A338Gの3つを選択した。これらのSNPを解析し、hCNT遺伝子のSNPとMZR血中濃度の関係を検討した。

【結果】体重当たりのMZR投与量 (mg/kg) とMZRの血中濃度 ($\mu\text{g/ml}$) には正の相関 ($r=0.40$, $P=0.0029$) がみられた。5例において高用量MZRを投与してもMZR血中濃度が有効域に上昇せず再発し、MZR吸収に個人差があると考えられた。MZRの血中濃度 ($\mu\text{g/ml}$) はhCNT1がG/A:2.95 (31例), A/A:2.62 (7例), G/G:3.42 (15例), hCNT2がC/C:3.04 (47例), C/T:3.04 (6例), hCNT3がA/A:3.13 (46例), A/G:2.42 (7例) であった。hCNT1, hCNT2, hCNT3のそれぞれのSNPの違いによるMZR血中濃度の変化に統計学的な有意差はみられなかった (hCNT1; $P=0.25$, hCNT2; $P=0.99$, hCNT3; $P=0.13$)。さらに、hCNTの各SNPの組み合わせによるMZR血中濃度の差を検討したが、G/A-C/C-A/A:2.95 (24例), G/A-C/C-A/G:2.75 (3例), G/A-C/T-A/A:3.14 (4例), A/A-C/C-A/A:2.88 (4例), A/A-C/C-A/G:1.47 (2例), A/A-C/T-A/A:3.77 (1例), G/G-C/C-A/A:3.63 (12例), G/G-C/C-A/G:2.88 (2例), G/G-C/T-A/A:1.95 (1例) と有意な差は認められなかった ($P=0.38$)。

【考察】MZR血中濃度と各SNPに統計学的に有意な関連性はなく、MZR吸収におけるhCNT1-3のSNPの影響が限定的であることが示された。健康な日本人の成人男性におけるMZR吸収に関して、hCNT1565-A/A遺伝子はG/G遺伝子よりもMZRのbio-availabilityが有意に低いとの報告がある。本研究で、11歳未満の群と11歳以上20歳未満の群に分けて検討を加えた。11歳以上20歳未満の群でMZR血中濃度はhCNT1のA/A群 (2例) はG/G群 (6例) より低い傾向にあったが ($P=0.04$) 症例数が少なく、今後症例を増やして検討する必要がある。Bio-availabilityの個体差の一因として年齢が考えられ、小児におけるMZR吸収は低年齢であるほど低いとの報告がある。今回の検討でMZR血中濃度とhCNTのSNPに関連がみられなかった要因として、細胞外液量やhCNTの発現量や活性の年齢差などが考えられる。また、MZRがhCNTに取り込まれる際にはナトリウムが必要であること、イノシン酸がMZR吸収を抑制することが知られており、食事内容に関する検討も必要と考えられる。

【結論】MZR血中濃度と各SNPに統計学的に有意な関連はなく、MZR吸収におけるhCNT1-3のSNPの影響が限定的であることが示された。今後は年齢による腸管hCNTの発現量の差や食事内容と腸管吸収率、MZR投与前の免疫抑制薬の影響等を検討していく必要があると考えられた。

本論文は小児難治性ネフローゼ症候群の寛解維持に用いられるMZRの血中濃度とhCNT遺伝子のSNPの関係を詳細に論じたものである。免疫抑制剤を用いた治療では安定した血中濃度を得ることが極めて重要であるが、難渋することが多い。小児ネフローゼ症候群の安定した疾患コントロールを得るために、MZRの至適投与方法確立を目指した臨床的に重要な論文である。

2) 審査結果の要旨:

本論文に対する最終試験は、平成29年12月25日の17時から病院棟3階会議室で実施された。

個々の症例のhCNT遺伝子のSNPとMZR血中濃度の関係を詳細に検討してMZRの至適投与方法確立を目指す真摯な姿勢、negative dataの原因を多方面から追究して新たな解析を加えていこうとする研究態度は称賛に価すると評された。

最終試験では著者から本研究を行うに至った背景、対象と方法、結果と考察および今後の展望が発表され、それに対して主査である有馬、副主査である植村、異両教授がいくつかの疑問点を質した。有馬は①MZRの血中濃度が上昇せずに再発した症例が全例男児であったことから、MZRの吸収に性差がある可能性、②ネフローゼ症候群の原因疾患との関連、③低年齢の患児でMZR吸収が低下する原因、④体重の影響、等について質問した。植村教授からは①他の免疫抑制剤との相違の可能性、②hCNTと病態との関連、③ネフローゼ以外の要因がhCNT発現におよぼす

影響、④小児科医としてどこまでフォローすべきと考えているか、等の質問がなされた。異教授からは①研究手法の詳細、②本研究に対する自らの思いと今回得られた研究成果をどのように解釈しているか、③具体的な今後の展望、等について質問がなされた。

これらの質問に対して著者は研究成果および文献的知識を基に自分の考えを含めて的確に応答し、博士学位論文の内容のみならず、その背景となる小児病態学、腎臓病態学、遺伝病学において深い学識を有することが確認された。また、今後の検討課題として解析に加えるべき項目を具体的に提示し、本研究を継続していこうとする強い意志を明らかにした。

したがって、主査と副主査は合議の上、提出された学位論文が確かに永田氏の研究成果であること、学位授与にふさわしい学識を有するものと判断し最終試験を合格と判定した。

3) 最終試験の結果：

合格

4) 学位授与の可否：

可