82　寝たきりゼロを目指す疾患・臓器横断的オミックス研究	成田　一衛

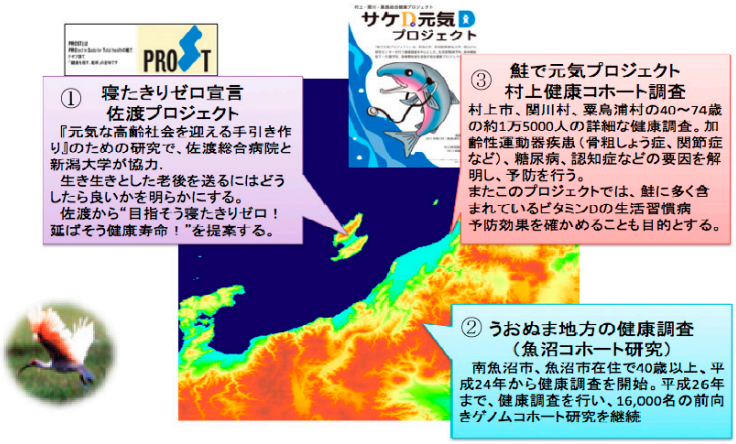
【目的】わが国の国民的な問題である自立障害、いわゆる“寝たきり”の原因疾患は、脳卒中 21%、認知症 15%、衰弱 13%、関節疾患 11%、骨折転倒 10%の順に多い（平成 22 年厚生労働省）。これらの骨・血管・神経等の病態は、糖尿病・循環器疾患・腎臓病などが基盤となることから、共通の多因子による発症・進展機序が作用しているが、未解明な点が多く効果的な介入が不可能である。そこで、臨床情報、生体試料の臓器横断的なオミックス解析を行い、加齢性変化の共通の分子基盤を同定する。加齢病態のリスク層別化、予防方法と治療戦略の創出を目指す。

【方法】著者らが今まで 10 年以上にわたり個別に構築してきたゲノム、および他の生体試料、ならびに臨床データからなる研究リソース（図 1）を活用し、加齢性変化を規定する共通の、あるいは地域・環境特異的な機能的異常を探索し同定する。観察期間における、認知症、大腿骨近位部骨折等の骨粗鬆症による脆弱性骨折、腎機能低下（血清クレアチニン上昇）、などの発症を明確に定義し、臨床表現型として明らかにし、糖尿病の有無および環境因子（食塩摂取量、運動習慣など）との関連を解析した。併行して著者らが保存してきた腎生検データベースと生体試料を使用して、IgA 腎症など主要な腎臓病の疾患発症のメカニズムを解析した。

【結果】佐渡島におけるすべての腎不全（血液透析）患者の認知機能を MMSE（mini-mental state examination）を用いて定量的に評価した。年齢、既知のリスク因子で補正した結果、血液透析患者は、病院に通院または入院している他の患者（非透析患者）に企画して約 2.5 倍認知症の発症リスクが高いことが判明した。また、透析導入時点で大腿骨近位部骨折のリスクは健常人の約 5 倍と著しく高いことが示された。大腿骨近位部骨折は生命予後に影響するばかりか、患者および家族の QOL を著しく損なうものであり、腎臓病患者の転倒予防、認知機能維持、ならびに骨代謝の恒常性維持が重要であることが明らかになった。腎臓病の新たな発症を抑制するうえで、生活習慣の修正が重要であることを前向き研究で定量的に証明した。

一方、主要な腎臓病の一つである IgA 腎症では、扁桃における細菌叢を解析しその結果を報告した。16s rRNA 解析による属レベルの分類では、小児扁桃肥大と明確に異なる細菌叢が存在することが明らかになったが、成人の習慣性扁桃炎との相異は検出されなかった。したがって、環境因子に対するホストの免疫学的応答の異常が発症を規定すると考えられる。そこでさらに腎生検標本のプロテオミクス解析、摘出扁桃や末梢血の遺伝子解析を行い、APRIL 遺伝子の関与が明らかとなった。

新潟大学におけるコホート（ゲノム、生体試料収集済み）



高齢化率35%（日本の都市部の30年後）で、地域特性の高い3つの地域でのコホート研究
村上“鮭で元気プロジェクト”、“佐渡“寝たきりゼロプロジェクト”、魚沼コホート、包括的・多目的臨床疫学を進めている。

82. 寝たきりゼロを目指す疾患・臓器横断的オミックス研究

成田　一衛

新潟大学 大学院医歯学総合研究科 腎・膠原病内科学

Key words：cognitive function，renal function，bone fracture，IgA nephropathy

緒　言

骨・血管・神経などの加齢性変化は、糖尿病・循環器疾患・腎臓病などで促進されるという事実から、ある程度共通の多因子による発症・進展機序に規定されていると考えられるが、詳細は未解明な点が多く、相互連関のメカニズムそのものに対する直接的かつ有効な対策はない。人口の高齢化が急速に進むわが国にとって、この問題は喫緊の課題の一つであり、世界をリードすべき分野であるとも言える。現在わが国におけるいわゆる“寝たきり”の原因となる疾患は、認知症、骨・関節疾患（大腿骨近位部骨折）、脳血管疾患、心不全などが主要部分を占める。したがって、それらの基礎病態への有効な対策の社会的要請は高い。一方、高齢者の特徴である“多様性と多病性”を鑑みると、いままでの個別の臓器、単独の疾患分野での研究・診療の枠を超えた、臓器連関研究が有効である可能性が高い。実際、上記の“寝たきり”の基礎疾患を単独で有する症例より、複数の病態を併せ持つ症例で日常生活動作（ADL）の低下が進行しやすく、しかもその対策が困難である。近年、“サルコペニア”や“フレイル”という用語が普及しているが、それらは複数の病態を併せ持った状態であることが多い。これらの加齢性病態の遺伝的背景の解明は、テーラーメイド医療や予防医学においても、高齢者の多様性という観点でより有効な介入のために必要である。著者らは、診療科の枠を越えた研究体制のもと、佐渡市での疫学調査（PROST: Project in Sado for Total Health）、日本透析医学会のデータベース、新潟大学腎・膠原病内科の腎生検データベースなどを活用して、臨床疫学、ゲノム研究を行った。それらのうち、下記の 3 点について報告する。

方法および結果

1. 認知機能の調査

佐渡総合病院通院中の成人患者で、本研究の説明を受け書面で同意を得た約 3,300 名。本研究は PROST（Project in Sado for Total Health）と呼称し、生活習慣に関わる詳細なアンケート情報や種々の臨床データ、さらに血液や尿といった生体サンプルを採取・保存し、前向きに解析を行うことで、さまざまな加齢性疾患の相互関連の解明を行うことと、寝たきり防止のための適切な介入方法の立案と実行をする、ということを目的として 2009 年から開始された。なお本研究全般について新潟大学倫理審査委員会で承認を受けている（承認番号　G2017-0017、ホームページ https://square.umin.ac.jp/prost/index.html）。これらのうち、認知機能検査 MMSE（mini-mental state examination）を測定した血液透析患者 66 名と、非透析患者 687 名について解析を行った［1］。以下に結果を示す。

表 1. 対象者の特徴

	All (n = 753)	Dialysis (*n* = 66)	No dialysis (*n* = 687)	*P*-value
Age (years)	68.1 ± 11.6	65.1 ± 11.2	68.4 ± 11.6	0.027
Male	446 (59.2%)	38 (57.6%)	408 (59.4%)	0.774
MMSE score (points)	25.8 ± 3.7	24.8 ± 4.6	25.9 ± 3.6	0.058†
MMSE score <24	196 (26.0%)	24 (36.4%)	172 (25.0%)	0.045
Stroke (self-reported history)	162 (21.5%)	12 (18.2%)	150 (21.8%)	0.490
Ischemic heart disease (self-reported history)	53 (7.1%)	7 (10.6%)	46 (6.7%)§	0.237
Hypertension (self-reported history)	460 (61.1%)	51 (77.2%)	409 (59.5%)	0.005
Diabetes (self-reported history)	170 (22.6%)	21 (31.8%)	149 (21.7%)	0.060

透析患者が3歳ほど若い。性差はない。MMSE(Mini-Mental State Examination)で約1点平均値が低く、
一般的なカットオフとされる24点未満を認知機能低下とすると、透析患者での認知機能低下が有意に多い。

表 2.　認知機能低下（MMSE24 点未満）の相対リスク（ロジスティック回帰分析）

	Unadjusted OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)†
Dialysis	1.71 (1.01–2.91)	2.57 (1.43–4.61)
Age (per year)	1.09 (1.07–1.10)	1.10 (1.07–1.12)
Male	1.03 (0.74–1.44)	0.93 (0.65–1.33)

† 透析,年齢、性で補正したオッズ比。CI,信頼区間、OR, オッズ比 (n=753)

透析患者の認知機能低下のリスクは 1.7 と有意に高く、性と年齢で調整すると、オッズ比は 2.5 であった。この結果は、既往歴を加えて調整してもほぼ同様（オッズ比 2.6）であった。

2. 大腿骨近位部骨折の頻度の調査

本研究で比較的短期間で解析に十分な頻度の骨折が起こる確率は低いため、全国 32 万人の透析患者を年次調査している透析医学会のデータを用いて、経年的な変化を解析した［2］。透析患者の大腿骨近位部骨折が、一般人口に比べて、男性で 6.2 倍、女性で 4.9 倍多いことは 2014 年に私共が報告した［3］。但し、この調査では 2007 年末の日本透析医学会のレジストリーデータを用いたため、その後のトレンドが不明であった。骨粗鬆症に対する啓発・治療や各種リン吸着薬などの普及により、この傾向は変化した可能性がある。

そこで改めて各年次において調査前年に大腿骨近位部骨折が無い症例を対象として、その後 1 年間に発生した新たな骨折の有無について調査した。

表 3.　各年次における調査対象患者

Characteristic	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Sample size	58,072	61,583	66,714	67,988	67,141	66,157
Age, y	65.1 ± 12.6	65.6 ± 12.6	66.0 ± 12.5	66.7 ± 12.4	66.3 ± 12.5	67.0 ± 12.4
Hemodialysis as dialysis modality	97.8%	97.7%	97.6%	97.5%	97.5%	97.4%
Dialysis vintage						
<1 y	10.9%	11.0%	10.6%	10.2%	10.2%	10.2%
1-<5 y	34.6%	34.0%	33.7%	33.3%	32.7%	32.3%
5-<10 y	25.3%	25.3%	25.3%	25.4%	25.1%	25.0%
10-<20 y	20.7%	21.0%	21.4%	21.7%	22.2%	22.4%
≥20 y	8.6%	8.7%	9.0%	9.5%	9.8%	10.0%
Primary cause of ESRD						
Chronic glomerulonephritis	41.3%	40.3%	39.8%	38.9%	37.9%	37.8%
Diabetic nephropathy	27.8%	32.4%	29.0%	29.2%	29.7%	30.1%
Nephrosclerosis	6.0%	6.3%	6.6%	6.9%	7.3%	7.7%
Polycystic kidney disease	4.3%	4.3%	4.3%	4.4%	4.5%	4.6%

ESRD:end stage renal disease
年齢は調査の前年、12月31日現在の年齢とした。

2008 年末から 2013 年末にかけてのデータを示す（表 3）。各年次 58,000～68,000 名の情報が得られた。徐々に年齢が上昇し、10 年以上の透析歴を有する症例が増える傾向がある。原疾患では慢性糸球体腎炎が減少し、糖尿病性腎症が徐々に増える傾向が伺える。興味深いことに、このようなバックグラウンドでは、大腿骨近位部骨折が増えることが推測されるが、結果はその逆であった（図 1）。

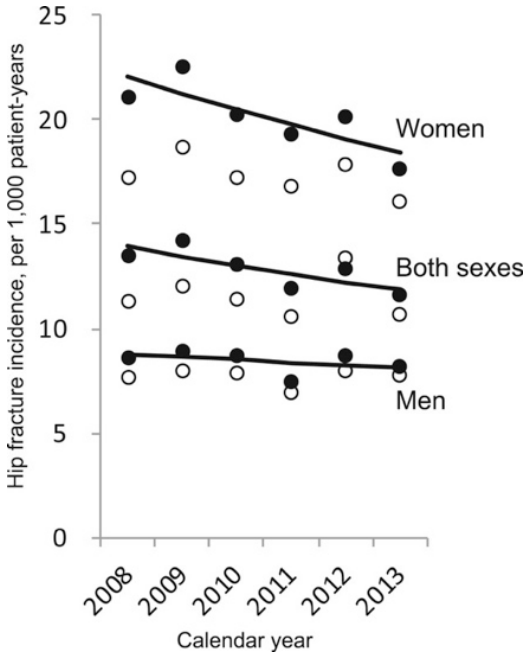


図 1. 黒丸：各年（横軸）における年齢調整後の 1000 人あたりの大腿骨近位部骨折の頻度。（白丸は年齢非調整）
結果、女性では 2008 年（21.1/1000 人年）から 2013 年（17.7/1000 人年）と有意な減少を認めたものの、男性では不変であった（2008 年 8.2/1000 人年、2013 年 8.2/1000 人年）。日本の一般人口では高齢化を背景に大腿骨近位部骨折が増加しているが、女性の透析患者ではむしろ減少傾向があることが明らかになった。

3. IgA 腎症患者の摘出扁桃マイクロバイオーム解析

著者らは年間約 400 例の腎生検症例を診断し、現在まで約 60 年間で 16,800 例以上の腎生検組織に関するデータベースを構築し、長期的な経過観察を行い、これらの試料を利用したゲノム解析を行っている。腎臓は老化に関連する遺伝子や分子の発現量が高く、リン・カルシウムなどの血管石灰化や骨質、骨量を規定するミネラルの最終的な出納を決定し、ビタミン D の代謝でも必須の臓器である。本研究では最も頻度が高い原発性糸球体腎炎であり腎不全の主な原因ともなる IgA 腎症の病因を明らかにし、予防に繋げる目的で、腎炎患者口蓋扁桃のマイクロバイオーム解析を行った [4]。IgA 腎症の治療目的で摘出された扁桃の陰窩から細菌特異的な 16s rRNA V4 領域を増幅し、次世代シークエンサーで細菌属レベルの存在比を解析した。対象は 48 例の治療前の腎生検で確定診断された IgA 腎症、コントロールとして 21 例の習慣性扁桃炎と 30 名の小児扁桃肥大患者、合計 99 名を解析した。本研究は新潟大学倫理審査委員会で承認され（承認番号 678）、全例から文書による同意を得て行った。
下記に主な結果を示す。

表 4. 解析対象患者の特徴

Patient characteristics	IgAN ($n=48$)	RT ($n=21$)	P-value	TH ($n=30$)
Age (years)	31.6 ± 9.5	29.1 ± 7.2	0.30	7.0 ± 2.7
Gender (male)	23 (47.9)	13 (68.4)	0.18	25 (83.3)
BMI (kg/m^2)	21.7 ± 2.9	22.5 ± 4.0	0.31	17.9 ± 4.8
Systolic BP (mmHg)	112.2 ± 10.0	116.5 ± 10.6	0.12	104.4 ± 11.9
Diastolic BP (mmHg)	67.5 ± 7.9	68.2 ± 7.9	0.73	64.4 ± 10.5
S-Cre (mg/dL)	0.81 ± 0.22	0.73 ± 0.14	0.28	0.32 ± 0.09
eGFR (mL/min/1.73 m^2)	82.0 ± 25.8	99.7 ± 17.0	0.004	–
BUN (mg/dL)	13.2 ± 3.2	12.1 ± 3.1	0.20	11.7 ± 3.0
WBC (×10^3/μL)	5.9 ± 1.4	6.4 ± 1.4	0.19	6.7 ± 2.3
Plt (×10^4/μL)	24.6 ± 4.9	26.5 ± 6.0	0.18	29.7 ± 8.1
TP (g/dL)	7.1 ± 0.6	7.3 ± 0.5	0.12	7.5 ± 0.4
AST (IU/L)	17.7 ± 5.5	22.3 ± 10.7	0.11	28.2 ± 7.8
RASI	29 (64.4)	0 (0.0)	<0.001	0 (0.0)
Urinary protein (g/day)	0.50 (0.30, 0.90)	–	–	–
IgA (mg/dL)	305.4 ± 94.0	–	–	–
Gd-IgA1 (μg/mL) ($n=23$)	4.0 ± 2.3	–	–	–
Period from renal biopsy to tonsillectomy (day)	174 (99, 368)	–	–	–
Oxford classification ($n=44$)				
Mesangial hypercellularity (M0/M1)	36/8 (81.8/18.2%)	–	–	–
Segmental glomerulosclerosis (S0/S1)	13/31 (29.5/70.5%)	–	–	–
Endocapillary hypercellularity (E0/E1)	15/29 (34.1/65.9%)	–	–	–
Tubular atrophy/interstitial fibrosis (T0/T1/T2)	40/4/0 (90.9/9.1/0%)	–	–	–

AST: aspartate transaminase, BMI: body mass index, RASI: renin-angiotensin system inhibitors, S-Cre: serum creatinine, Gd-IgA1: galactose deficient IgA1

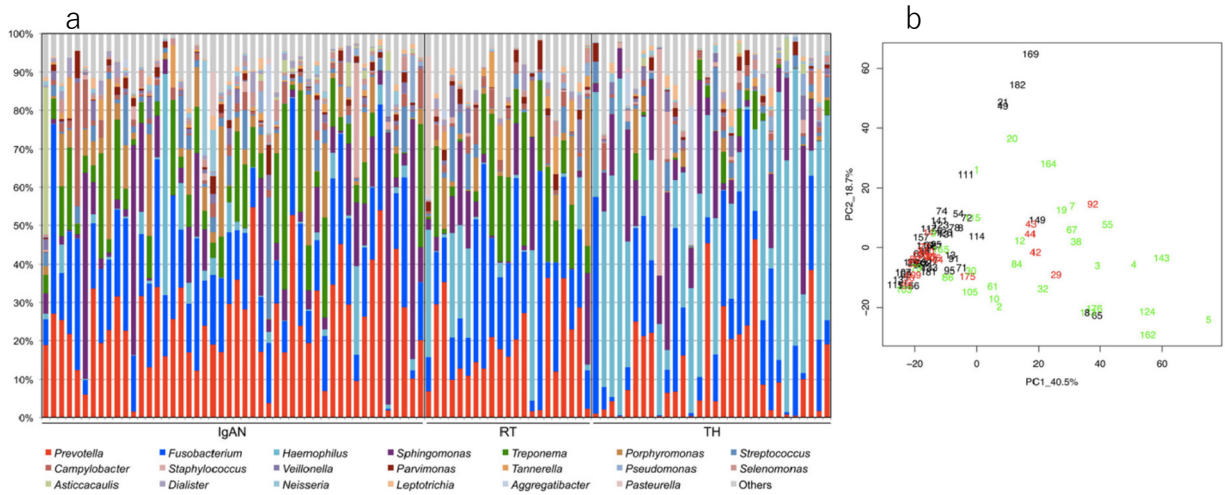


図 2. a) 扁桃陰窩の細菌属構成（16S rRNA シークエンス）。縦軸に色別で各症例の細菌属の存在比を示す。
b) 主成分分析による各症例の細菌属の総体的多様性。黒が IgA 腎症、赤は習慣性扁桃炎、緑が扁桃肥大。
表 4 に解析対象、図 2 に結果を示す。細菌特異的な 16S rRNA の V4 領域の配列情報による細菌属レベルの比較では、IgA 腎症患者と習慣性扁桃炎患者との明確な差は認めなかった。

考　察

本研究期間内において実施した研究内容について、主に上記 3 点について研究結果を報告した。腎不全患者の認知機能に関するコホート調査では、はじめて認知機能低下のリスクを定量的に示すことができた。佐渡市において透析医療は佐渡総合病院 1 箇所のみで行われており、本調査はこの地域におけるほぼ全例の腎不全患者を調査したことになる。同病院通院中の腎不全がない他の患者と比較して、性、年齢、既往歴で補正して約 2.5 倍の認知機能低リスクがあることが明らかになった［1］。すなわち寝たきりの要因の一つである認知機能低下と腎機能低下の関連が深く、腎機能を温存するなどの全身的な介入が認知症を予防する有用な手段となる可能性を示す。今後さらに縦断的な解析を加える必要がある。

大腿骨近位部骨折は、寝たきりなど日常生活動作の低下のみでなく、一度発生すると生命予後を著しく悪化させるこ

とは良く知られている。したがって、予防がきわめて重要である。私共の過去の報告で［2］、腎不全患者は透析導入時点で、大腿骨近位部骨折のリスクが健常人の 5〜6 倍高いことが示されていた。今回の経年的な再調査では、女性腎不全患者の骨折は過去 5 年間にわたって持続的に減少傾向ではあるが依然として高く、男性ではほぼ不変であることが示された。一方、一般人口においては大腿骨近位部骨折は増加していることが知られている。高齢化が進む腎不全患者で観察された、この 5 年間の大腿骨近位部骨折の減少・もしくは不変の傾向は、その要因を明らかにすることができれば、一般人口に対する介入方法の開発に有用な示唆を与える可能性がある。今後さらに、要因分析を進める必要があると考える。

認知症や骨折のリスクを低下させるために、腎疾患の発生自体を減らす、あるいは腎炎の原因を明らかにして予防法を確立することも重要で有用と考えられる。原発性糸球体腎炎のうち最も多い IgA 腎症の原因として、口蓋扁桃の細菌叢や、それに対する宿主側の免疫異常、さらにはそれらに影響を及ぼす遺伝的な素因が関与していると考えられている。習慣性扁桃炎患者は健常人と異なる扁桃細菌叢を有するという既報があり、IgA 腎症でも（習慣性扁桃炎と類似の）扁桃における持続的な感染・炎症状態が、ガラクトース欠損などの糖鎖不全 IgA1 産生の要因であることが示唆された。一方では環境因子以外の遺伝的要因の関与が発症にかかわっている可能性が高いことも示された。今後さらに、糸球体プロテオミクス解析やゲノム DNA の解析、家族性発症をしめす IgA 腎症症例の解析など、多面的な研究を進めることにより、本症に対する予防法や治療法の開発が進むことが期待される。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、新潟大学大学院医歯学総合研究科社会環境医学の中村和利教授、同整形外科学の遠藤直人教授、同神経内科学の小野寺理教授、同臓器連関医学の横関明男准教授、同地域医療長寿学寄附講座の若杉三奈子特任准教授である。

文　献

1） Watanabe Y, Kitamura K, Nakamura K, Sanpei K, Wakasugi M, Yokoseki A, Kabasawa K, Onodera O, Ikeuchi T, Kuwano R, Momotsu T, Narita I, Endo N. Association between dialysis treatment and cognitive decline: A study from the Project in Sado for Total Health (PROST), Japan. *Geriatr Gerontol Int* 2016: DOI 10.1111/ggi.12937

2） Wakasugi M, Kazama JJ, Wada A, Hamano T, Masakane I, Narita I. Hip Fracture Trends in Japanese Dialysis Patients, 2008-2013. *Am J Kidney Dis* 2018; **71:** 173-81.2017/11/23. DOI 110.1053/j.ajkd. 2017.07.017

3） Wakasugi M, Kazama JJ, Taniguchi M, Wada A, Iseki K, Tsubakihara Y, Narita I. Increased risk of hip fracture among Japanese hemodialysis patients. *J Bone Miner Metab* 2013; **31:** 315-21 DOI 110.1007/ s00774-012-0411-z

4） Watanabe H, Goto S, Mori H, Higashi K, Hosomichi K, Aizawa N, Takahashi N, Tsuchida M, Suzuki Y, Yamada T, Horii A, Inoue I, Kurokawa K, Narita I. Comprehensive microbiome analysis of tonsillar crypts in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2016: DOI 110.1093/ndt/gfw343