

血液透析患者における Klotho 遺伝子のメチル化変性と心血管病，栄養障害との関係

本田浩一*1 小林靖奈*2 保坂 望*1 上竹大二郎*3 有賀誠記*4 柴田孝則*5

*1 昭和大江東豊洲病院内科診療センター腎臓内科 *2 新潟薬科大学薬学部薬効安全性学 *3 豊洲腎クリニック
*4 門仲腎クリニック *5 昭和大医学部内科学講座腎臓内科学部門

key words : エピジェネティクス, 血液透析, 心血管病, 栄養障害

要 旨

透析患者は動脈硬化や心血管病，栄養障害 Malnutrition Inflammation Atherosclerosis (MIA) 症候群の発症頻度が高く，同患者の予後向上のためにはその病態を解明することが必須である。MIA 症候群の発症は酸化ストレス・慢性炎症，細胞寿命や長寿に関連する因子の異常が病態に関係する可能性が示唆され，後天的遺伝子変性が CKD の進展機構と関係することが報告されている。本研究では血液透析患者の長寿関連遺伝子 (Klotho 遺伝子) のプロモーター領域の後天的変性について検討し，同遺伝子の DNA メチル化が心血管病や栄養障害と関係する結果が得られた。透析患者の合併症は後天的遺伝子変性が関係する可能性がある。

はじめに

慢性腎臓病 (CKD)，特に透析患者では動脈硬化や心血管病，栄養障害を伴う特徴的な合併症 (MIA 症候群) を発症し，その病態は加速度的に進展する¹⁾。MIA 症候群は透析患者の予後に大きく影響するため，MIA 症候群の病態を解明することは同患者の予後向上のためには必須である。

MIA 症候群の発症は酸化ストレス・慢性炎症，細胞寿命や長寿に関連する因子の異常が病態に関係する可能性が示唆されている²⁾。最近，後天的遺伝子変性

(DNA メチル化) が CKD 患者の慢性炎症や酸化ストレス，動脈硬化性病変と関係することが報告された³⁾。特に透析患者では酸化ストレス亢進から DNA メチル化が生じやすいため，酸化ストレス・慢性炎症と細胞寿命や長寿に関連する遺伝子群の異常が相乗的に関係し，加速度的に合併症が発症・進行する一連のメカニズムが考えられる。

以上の背景より，本研究では血液透析患者を対象に標的となる DNA のメチル化について検討した。

1 方 法

① 対象

対象患者は文書にて本研究への参加に同意を得た血液透析患者 132 名である。

② エピゲノム解析

Klotho 遺伝子の後天的変性を解析するために，白血球から DNA を抽出して凍結保存した。全血 8 mL 中の白血球からゲノム DNA を抽出して -80 度に凍結保存した。

Klotho 遺伝子プロモーター領域のエピゲノム変性は，同領域の CpG アイランドのメチル化解析により同定した。Klotho プロモーター領域のメチル化・非メチル化プライマーは既報の配列を参考に作製した⁴⁾。保存 DNA をバイサルファイト処理後に，メチル化・非メチル化プライマーを用いて PCR 増幅し，電気泳動解

DNA methylation of Klotho promotor gene is associated with prevalence of cardiovascular disease and malnutrition in patients under hemodialysis
Division of Nephrology, Department of Medicine, Showa University Koto Toyosu Hospital
Hirokazu Honda
Nozomu Hosaka
Department of Pharmacy, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Science
Yasuna Kobayashi

析 (COBRA 法) を行った。

③ 評価項目

患者診療録あるいは電子カルテ等から患者背景 (性別, 年齢, 原疾患, 冠動脈疾患や高血圧症, 糖尿病の有無, BMI, 血液検査結果を記録した。

ターゲットとなる DNA のメチル化と前述の項目から得た心血管病や栄養に関する項目との関係を横断的に解析した。

2 結果

125 例の DNA メチル化解析を終了した。表 1 に Klotho 遺伝子プロモーター領域のメチル化変性の有無で分けた患者背景を示す。

約 40% の患者において Klotho 遺伝子プロモーター領域のメチル化変性を認めた。メチル化変性を有する

患者は心血管病の既往歴が高率で, 栄養マーカー (血清アルブミン値ならびに geriatric nutritional risk index) が低値であった。このことから, Klotho 遺伝子のプロモーター領域における後天的変性は血液透析患者の心血管病の発症や栄養障害に関わる可能性が示唆され, MIA 症候群の発症とも関係する可能性が考えられた。

3 結論

血液透析患者の心血管病の発症や栄養障害には Klotho 遺伝子の後天的遺伝子変性が関係する可能性がある。

現在, Surt1 遺伝子プロモーター領域のメチル化変性の解析, ターゲット遺伝子のメチル化の有無と血清レベルの関係, DNA メチル化に関連する酵素 (DNA

表 1 患者背景

	Klotho promoter gene methylation (+) (n = 49)	Klotho promoter gene methylation (-) (N = 76)	P value
Age (years)	70 ± 12	66 ± 11	0.02
Gender (male, %)	67	73	0.44
Diabetes mellitus (%)	53	52	0.96
Cause of CKD (%)			0.16
Chronic glomerulonephritis	8	19	
Diabetic nephropathy	39	46	
Nephrosclerosis	35	17	
Polycystic kidney disease	2	1	
Other diseases	14	15	
Unknown	2	2	
Systolic blood pressure (mmHg)	153 ± 21	154 ± 19	0.94
Diastolic blood pressure (mmHg)	77 ± 10	80 ± 11	0.12
Body mass index (kg/m ²)	21.4 ± 3.7	22.6 ± 4.1	0.07
History of CVD (yes, %)	43	25	0.04
Hemodialysis vintage (months)	53 (15,207)	63 (9,423)	0.09
Geriatric nutritional risk index (%)	94 ± 9.5	99 ± 9.3	0.02
Kt/V	1.52 ± 0.29	1.53 ± 0.27	0.97
White blood cell (/μL)	6,193 ± 1,931	6,047 ± 2,114	0.46
Hemoglobin (g/dL)	10.6 ± 1.7	10.7 ± 0.8	0.73
Albumin (g/dL)	3.6 ± 0.3	3.8 ± 0.3	0.02
Creatinine (mg/dL)	10.0 ± 2.6	11.4 ± 2.3	0.05
Calcium (mg/dL)	8.7 ± 0.6	8.7 ± 0.4	0.82
Phosphate (mg/dL)	5.1 ± 1.0	5.2 ± 1.1	0.56
High-sensitive CRP (mg/dL)	0.12 (0.05, 6.74)	0.11 (0.05, 3.88)	0.74

メチルトランスフェラーゼ) 活性の異常について検討を進めており, 今後は Klotho 遺伝子の後天的変性との関係も含めて解析を行う。また, 血液透析患者の Klotho 遺伝子の変性頻度は, 腎機能正常患者や保存期腎不全患者と比べて増加しているが不明のため, 腎機能正常コントロールや保存期腎不全患者とメチル化変性の発生頻度を比較・検討する予定である。

本研究は平成 25 年度日本透析医会の公募研究助成によるものである。

文 献

- 1) Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O, et al. : Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin a as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis* 2006; 47 : 139-148.
- 2) Dwivedi RS, Herman JG, McCaffrey TA, et al. : Beyond genetics : epigenetic code in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2011; 79 : 23-32.
- 3) Wing MR, Devaney JM, Joffe MM, et al. : DNA methylation profile associated with rapid decline in kidney function : findings from the CRIC study. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29 : 864-872, 2014.
- 4) Sun CY, Chang SC, Wu MS : Suppression of Klotho expression by protein-bound uremic toxins is associated with increased DNA methyltransferase expression and DNA hypermethylation. *Kidney Int* 2012; 81 : 640-650.