

ビタミン D 結合蛋白 (DBP) 遺伝子多型が透析患者の予後に与える影響についての検討

中島章雄

東京慈恵会医科大学 腎臓・高血圧内科

key words : 血液透析, ビタミン D, 死亡率, 遺伝子

要 旨

透析患者の予後に関与する重要な因子の一つとしてビタミン D との関係性が明らかになってきている。ビタミン D は血中では特異的結合蛋白質 (Vitamin D-binding protein; DBP) と結合し、DBP および遺伝子多型と各種疾患との関連性が近年明らかになっている。今回、DBP とその遺伝子多型が透析患者の予後に関与するか明らかにする研究を実施した。DBP に関与する因子として血清 P, iPTH, FGF-23 が明らかになった。DBP と各種アウトカムは有意な関係性は得られず、遺伝子多型を加味した解析においても同様の結果であった。今後、他の遺伝子多型を含めた解析を進め、透析患者におけるビタミン D の有用性を調査していく。

緒 言

透析患者の生命予後は一般健常人と比較して依然として低く、その対策は医療者にとって急務である。予後に関与する因子の一つとしてビタミン D との関係性が近年明らかになってきている。ビタミン D は生体内で様々な役割を担っており、骨・ミネラル代謝における主要な因子であると同時に、心保護作用・感染症予防作用などの多面的な役割を有している¹⁾。

ビタミン D の代謝経路として、食物および皮膚での紫外線照射により天然型ビタミン D が得られ、血中では特異的結合蛋白質 (Vitamin D-binding protein; DBP) と結合する。その後、肝臓が主体となり代謝を

受け 25(OH)D となり、大部分が DBP と結合する。25(OH)D-DBP 複合体は安定した状態で血中に存在し、メガリンなどを介して腎近位尿細管細胞に再吸収され、1 α -hydroxylase により活性作用を有する 1,25(OH)₂D へ変化する。一般的に 25(OH)D は生理活性を有さないと考えられていたが、DBP と結合しない free 25(OH)D、およびアルブミンやリポ蛋白と結合している 25(OH)D はビタミン D 受容体への結合能を有し、生体へ各種影響をもたらす²⁾。

KDIGO を始めとした各種ガイドラインで 25(OH)D が低下している場合、天然型ビタミン D 製剤の補充を推奨している。一方で、25(OH)D の生体内での働きは DBP の遺伝子多型により異なることが近年明らかになってきている。DBP は遺伝子多型によって複数の表現型が存在し、その表現型により 25(OH)D との結合能がことなることが報告されている。また本遺伝子多型は人種による差異が大きいことが知られている³⁾。

以上の研究結果より、従来は 25(OH)D 濃度がビタミン D の充足の程度を反映すると思われていたが、個々人の DBP 遺伝子多型を考慮しない限り、ビタミン D の状態を正確に評価できないと近年考えられている。しかしながら以上の知見は横断的な研究が大部分であり、DBP の遺伝子多型を基にしたビタミン D の充足状態が長期的な予後透析患者で反映するか調査した研究は未だになされていない。

1 対象・方法

申請者らは2012年1月より血液透析患者を対象とした多施設共同前向きコホート研究を行っている。今回、同コホートを対象とし、ビタミンDおよびDBPの遺伝子多型が予後に関与するか明らかにする研究を計画した。対象者は全例DNAおよび血清を採取し冷凍保存している。同検体を用いてDBPの遺伝子多型を解析しビタミンD濃度を測定する。そして全死亡、心血管イベントの発症をアウトカムとし、ビタミンD濃度およびDBPの遺伝子多型が予後に関与するか調査を行う。

解析予定の遺伝子多型はrs7041とrs4588の2カ所である。末梢血DNAからReal-time PCRを用いて遺伝子多型の決定を行う。研究参加者のDNAは登録時に末梢血白血球より分離し、 -80°C の環境下で凍結保存されている。遺伝子多型の解析後、25(OH)D濃度、ビタミンD欠乏の頻度について既知のビタミンD濃度に関与する因子を含めた多変量解析を行い、DBP遺伝子多型が影響するかを検討する。

次に、登録時のデータを用いて、DBP遺伝子多型と25(OH)Dをはじめとする骨・ミネラル代謝マーカーとの関連性を解析する。Ca, P, iPTH, FGF-23を測定しており、これらのマーカーと25(OH)DおよびDBP遺伝子多型との関連性を横断的に明らかにする。参加者の凍結保存されている血清を用いて、FGF-23の測定を行う。FGF-23の測定はKAINOS社のELISAキットを用いて測定を行う。解析方法としては骨・ミネラル代謝マーカーを目的変数として、25(OH)DおよびDBP遺伝子多型を含めた説明変数での多変量解析を行う。またCa, P, iPTHはガイドラインにより目標値が設定されているため、ビタミンD製剤、リン吸着剤、シナカルセトの使用の有無および使用量をアウトカムとした多変量解析も併せて行う。

さらに本研究では3年間の期限で予後を調査する。各透析施設に予後調査表を郵送し、1年に1度の頻度で定期的にアウトカムの発症を確認する。必要に応じて、申請者らのグループが各施設で直接アウトカムの発症を調査する。アウトカムとしては、全死亡、心血管疾患、骨折を予定している。解析方法としては、Cox-hazard modelを用いる。

解析モデルとしては従来の先行研究に従い、25

(OH)D濃度のみで評価した予後解析をまず行う。次にDBP遺伝子多型により解析対象を分類し、25(OH)D濃度、その他の各種予後に関与する交絡因子を含めた解析を行う。以上の解析によりDBP遺伝子多型が予後に関与するか明らかにする。

2 結果

登録患者1,241名の平均年齢は63.4 (± 11.7)歳、透析歴は85 (38~153)カ月であった。糖尿病患者は37.8%であり、17.7%の患者が心血管疾患の既往を有していた。また骨・ミネラル代謝に関与する因子の結果は以下の通りである。Ca: 8.9 (± 0.7) mg/dl, P: 5.4 (± 1.4) mg/dl, iPTH: 146 (83~232) pg/ml, ビタミンD製剤の使用者: 63.7%, シナカルセトの使用者: 30.7%, 血清DBP濃度は438 (250~1,023) mg/dlであった。

血清DBP濃度を目的変数として多変量解析を行い関与する因子を調査したところ、透析歴、血清Alb濃度、血清P濃度、血清iPTH濃度、血清 β_2 -mg濃度、シナカルセトの使用、血清FGF-23濃度が有意な因子であった。全死亡をアウトカムにCox比例ハザードモデルで解析を行ったところ、年齢、透析歴、糖尿病の既往、ビタミンD製剤の使用は有意に関与する因子であったが、DBP濃度は有意な相関を認めなかった。心血管疾患の発症および骨折に関しても同様の解析を行ったがDBPは明らかな相関を認めず、遺伝子多型を加味した解析を施行したが、その結果に変化は見られなかった。

3 考察

本研究では血清DBP濃度を測定し、DBP遺伝子多型の解析を行った。DBP濃度に関与する因子を明らかにするため多変量解析を行ったところ、透析歴、血清Alb濃度、血清P濃度、血清iPTH濃度、血清 β_2 -mg濃度、シナカルセトの使用、血清FGF-23濃度が有意な因子であった。一方でDBPと全死亡、心血管疾患の発症などのイベント発症は有意な関係性は得られず、DBP遺伝子多型を含めた解析を行っても同様であった。

血液透析患者でDBP濃度を測定し調査した研究は少なく、先行研究ではDBPを含めて算出したbioavailable 25(OH)Dが透析患者のCKD-MBDの状態を反映

すると報告されている⁴⁾。また保存期腎不全患者では、DBP濃度が末期腎不全をアウトカムにしたところ有意な因子であったと報告されている⁵⁾。一方で、DBPやDBPの遺伝子多型と心血管疾患との発症を調査した先行研究では有意な関係性を認めなかった⁶⁾。本研究ではDBPやDBPの遺伝子多型では各種アウトカムと有意な関係性を認めなかったが、DBPを用いたbioavailable 25(OH)Dの解析を進め、DBPの遺伝子多型の解析を引き続き行い、透析患者におけるビタミンDの有用性について明らかにしていく。

4 結論

DBPに関与する因子として血清P, iPTH, FGF-23が明らかになった。DBPと各種アウトカムは有意な関係性は得られず、遺伝子多型を加味した解析においても同様の結果であった。今後、他の遺伝子多型を含めた解析を進め、透析患者におけるビタミンDの有用性を引き続き調査していく。

平成28年度日本透析医会公募研究助成により得られた成果は、原著論文として医学雑誌に投稿を行っている。二重投稿となることを避け、本報告書ではその

概要を総説的に記載した。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

文 献

- 1) Sterling KA, Eftekhari P, Girndt M, et al. : The immunoregulatory function of vitamin D : implications in chronic kidney disease, *Nat Rev Nephrol* 2012; 8(7) : 403-412.
- 2) Segersten U, Correa P, Hewison M, et al. : 25-hydroxyvitamin D(3)-1alpha-hydroxylase expression in normal and pathological parathyroid glands, *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(6) : 2967-2972.
- 3) Powe CE, Evans MK, Wenger J, et al. : Vitamin D-binding protein and vitamin D status of black Americans and white Americans, *N Engl J Med* 2013; 369(21) : 1991-2000.
- 4) Bhan I, Powe CE, Berg AH : Bioavailable vitamin D is more tightly linked to mineral metabolism than total vitamin D in incident hemodialysis patients, *Kidney Int* 2012; 82(1) : 84-89.
- 5) Rebholz CM, Grams ME, Lutsey PL, et al. : Biomarkers of Vitamin D Status and Risk of ESRD, *Am J Kidney Dis* 2016; 67(2) : 235-242.
- 6) Michos ED, Misialek JR, Selvin E, et al. : 25-hydroxyvitamin D levels, vitamin D binding protein gene polymorphisms and incident coronary heart disease among whites and blacks : The ARIC study. *Atherosclerosis* 2015; 241(1) : 12-17.