

## ネフローゼ症候群における糖質ステロイド薬感受性に関わる遺伝子解析研究

伊藤 雄 伍

杏林大学医学部小児科学

小児の特発性ネフローゼ症候群は、80~90%が微小変化型であるにも関わらず、第一選択薬である糖質ステロイド薬（以下ステロイド）への反応性は様々で、その薬理作用機序も未だ不明である。近年、ステロイドの感受性に関わる分子群の中で、そのmRNAの発現がステロイドによりupregulateされる遺伝子glucocorticoid-induced transcript 1 gene (*GLCC1*) が注目されつつある。これまでに、気管支喘息の吸入ステロイド治療感受性は、*GLCC1*のプロモーター領域の一塩基多型 (SNP) と相関するという報告と (N Engl J Med 365: 1173, 2011)、小児のネフローゼ症候群におけるステロイド治療には相関しないという報告が相次いで発表された (Pediatr Nephrol. 27: 1595, 2013)。我々は*GLCC1*の蛋白機能実験から、*GLCC1*の結合タンパクがdynein light chain-8 (LC8)であることを同定し、*GLCC1*は胸腺T細胞において脱リン酸化LC8-Bim系を介した内因性アポトーシスを誘導することを既に報告した。本研究では、我々が解明してきた*GLCC1*の蛋白機能を基に、ネフローゼ患児のステロイド感受性に関わる遺伝子候補として*GLCC1*と*GLCC2*を基質とするキナーゼ群を挙げ、その遺伝子多型を解析することを目的とした。

本研究は、杏林大学医学部倫理委員会の承認 (No. 476) を得て行われた。小児期発症の特発性ネフローゼ患者および保護者から研究参加の同意を署名で取得した後、末梢血採血にてサンプルを採取した。末梢血から回収したgenomic DNA 292例 (初回治療抵抗性33例, 感受性259例)、正常コントロールとして日本人由来B細胞PSC (Pharma SNP Consortium) 株DNA 100例を対象に、遺伝子解析を行った。まず、高性能高速キャピラリー型シーケンサーを用いて、各サンプルの*GLCC1*のプロモーターおよびエクソン部位、LC8と*PAK1*のエクソン部位について塩基配列決定を行い、変異およびSNPの解析を行った。その存在パターンとステロイド反応性の

関連を統計学的に検討した。次に、*GLCC1*のプロモーター部位、イントロン部位を含め、次世代シーケンサーを用いて塩基配列の決定を行った。同様に存在パターンとステロイド反応性の関連を統計学的に検討した。

その結果、*GLCC1*のプロモーター領域に、既報と同様ほぼ完全な連鎖不均衡にある2箇所のSNP (rs37972 (C>T), rs37973 (A>G)) と、エクソン8に新たに1箇所のSNP (rs929509 (C>T)) が同定された。これらの出現頻度は、抵抗性群と感受性群、および抵抗群とコントロール群間で有意差はなかった (rs37972でそれぞれp=0.83, p=0.81, rs929509でそれぞれp=0.59, p=0.25) (表1, 2)。LC8のエクソン1で2箇所のSNP (rs12857 (T>G), rs580016 (T>C)) が同定されたが、抵抗性群と感受性群、および抵抗性群とコントロール群間で有意差はなかった (rs12857でそれぞれp=0.95, p=0.73, rs580016でそれぞれp=0.83, p=0.81) (表3, 4)。PAK1の全エクソンにSNPはなかった。一方、*GLCC1*イントロン解析では、全てのイントロンでホモ接合SNPの頻度が感受性群に比し抵抗性群で明らかに多く同定された。ホモ接合SNPが約20箇所同定されたイントロン6について、両群各16例の解析を行った。SNP数の中央値は抵抗性群で8、感受性群で1であった (表5)。

ステロイドは、アレルギー疾患、自己免疫疾患、膠原

表1 *GLCC1* SNP rs37972 (プロモーター領域)

	CC	CT	TT
抵抗性群	12 (41.3%)	12 (41.3%)	5 (17.4%)
感受性群	60 (37.0%)	77 (47.5%)	25 (15.4%)
コントロール群	34 (35.8%)	46 (48.4%)	15 (15.8%)
HapMap JPT	64 (37.2%)	84 (48.8%)	24 (14%)

C: チミン  
T: シトシン  
HapMap JPT: 国際HapMapプロジェクトによる日本人データ

