

スリランカで多発する慢性腎疾患の原因究明

実施予定期間：平成 22 年度～平成 24 年度

代表機関：京都大学大学院医学研究科環境衛生学分野

代表者：小泉 昭夫

国内参画機関：(財) 田附興風会医学研究所北野病院腎臓内科

代表者：武曾 恵理

国外参画機関：ペラデニヤ大学理学研究科地質学教室

代表者：Rohana Chandrajith

I. 概要

スリランカ民主社会主義共和国では、北東部の開拓地域で農民に慢性腎疾患が多発しており、早急な解決が望まれる。①慢性腎疾患の病理的検討、②慢性腎疾患の疫学的検討、③慢性腎疾患の遺伝疫学的検討、3つのサブテーマを通じ、原因の解明を行う。プロジェクトは京都大学、京都大学の関連病院である北野病院、ペラデニヤ大学で行う。原因の解明と同時に進められる当該分野の人材育成により、予防施策の確立および早期診断に資する。

1. 共同研究の内容

a. 相手国・地域における課題のニーズと社会への適用
スリランカ民主社会主義共和国（以下スリランカと略す）は、インド洋に位置する人口約 2,024 万人の発展途上国である。農業を主力産業とし、天然資源は豊富であるが、1987 年以来続いた内戦のため、経済的には疲弊している。GDP は 396 億ドルであり、一人あたりの GDP は 4,600 ドルである。2009 年に 22 年に渡る内戦が終結し、今後本格的な経済開発が期待されている。スリランカの気候は熱帯性であり、島の東北部は多雨期を除いて乾燥しており、スリランカ政府は内戦による困難な経済状況の中、この地域の開発のため灌漑設備を建設し、1970 年代以降農民の入植を進めてきた。北東部地域の面積は 10,472km²（同国総面積の 16%）に上り、現在大よそ 110 万人の人口を擁する。この地域の入植者に、近年慢性腎疾患が多発しており、有病率は年々増加していることが判明した。その増加は、著しいものがあり、地域の医療資源の疲労のみならず若年農業従事者の人口減にまで結びついている。この地域の中核地である Medawachchiya における Screening 調査では、有病率は、人口の 4.8%にも上る。この内の大よそ 7%において、高度に腎機能が障害（糸球体ろ過量<15ml/min）されており、人口の 0.33%において人工透析の導入が必要であると見積られている。その内 20-60 歳は、32%を占め、慢性糸球腎炎および糖尿病性腎症は約 2/3 を占める。年齢および病因で補正した場合、実際の有病率は、我が国の 5 倍程度と推定され、我が国とは異なる病因が想定される。本疾患は、人工透析の導入が必要なため、限られた財政の中から多大な資金が医療への投入を余儀なくされている。

この地域において、Bandara et al. 等は、環境中の重金属に注目し環境疫学調査を行った。重金属のうち、カドミウムが飲料水およびコメ中に高いことを見出した。さらに疫学研究により、この飲料水中のフッ素濃度が高いこと、アルミニウムの食器の多用、農薬の曝露、アーユルヴェーダ薬の使用、蛇による咬傷の既往、家族歴がリスク要因として指摘された。

スリランカは内戦により、タミール人を支持した印欧米との関係が良好でなく、西側先進国で大使館を有しているのは、日本のみである。日本への留学経験のある研究者を通じて、京都大学の我々の教室にペラデニヤ大学の研究者

から共同研究の申し入れがあった。そこで我々は、2008 年から患者一対照疫学研究を行い、環境水、飲料水、米、アーユルヴェーダ薬に含まれる重金属を網羅的に測定し、重金属による環境汚染の可能性は極めて低いことを証明した。また、2009年8月には、現地北東部でのフィールド調査を行い、生活環境の把握、家族集積性の確認とともに、106名の異なる慢性腎不全のステージにある患者と対照者から尿を採取し、糸球体障害および尿管障害のバイオマーカーによる早期診断の可能性を検討した。イタイイタイ病のような典型的な尿管障害や、慢性糸球体腎炎による糸球体損傷が考えにくいことを見出した。また同時に、慢性腎不全の患者19名の生検組織の病理診断を行い、病的には慢性虚血性病変が主であり、糸球体の虚血病変、尿管の虚血病変、腎間質における線維化が進行することが判明した。この所見は、尿におけるバイオマーカーの所見をよく説明する。本研究の目的は、スリランカで多発する慢性腎疾患に対して病因を解明し、早期発見と予防のプログラム策定に資することである。

b. 研究内容・手法

スリランカで多発する慢性腎疾患の病因解明のため以下の3つのプロジェクトを遂行する。

(1) 慢性腎疾患の病理的検討：

(a) スリランカおよび我が国病理専門家による腎臓病理所見の解明と病変進行のプロセスの解明：現在、腎臓を専門とする病理医がスリランカには十分存在しないため、生検組織標本の十分な解析は行われていない。そこで、京都大学の教育病院の一つである北野病院で、腎臓の病理を専門とする武曾恵理臨床教授が病理診断を行う。武曾教授とスリランカのペラデニヤ大学の病理学専門家で共同して、同一腎生検組織を観察し、両国の病理専門家での意思統一を図る。検体数は総計でステージ 2 からステージ 4 までの検体とし、多発地帯である Medawachchiya および Gurandrukotte の住民における慢性腎不全患者とする。検討により、最も早期の病変、病変の進展、典型となるプロトタイプの病理所見を整理し、進展のプロセスを明らかにする。

(b) 腎病理組織の組織的特徴の解明：北野病院の武曾教授は、ペラデニヤ大学で採取された生検材料を用いて、種々の免疫組織化学的検討を行うとともに、電子顕微鏡による超微細構造の観察を行う。これらにより、腎病変の詳細な特徴付けを行う。これらの検討は病変の進展過程を明らかにする上で不可欠であるが、ペラデニヤ大学には十分な設備がなく、強い要望がある。

(2) 慢性腎疾患の疫学的検討

北東部の Medawachchiya および Girandrukotte の 2 地域において病院ベースの患者対照研究を行う。予備的疫学調査で、農民、男性、飲酒歴がリスク要因と既に判明しているため、男性を対象として、100名の患者に対して 200名の対照を年齢および居住地をマッチングさせる。さらに、尿サンプル、血液サンプルを採取し、life style、職業、アルコール摂取量、体重、身長、家族歴、現病歴など質問票を用い、リスク要因を探る。医学的既往については、同国ではすべて患者登録が地域基幹病院になされており、基幹病院に保存された診療情報を用いる。

(3) 慢性腎不全の遺伝疫学的検討

同地域はマラリア多発地帯であり、本住民には、G6PD 欠損症が多いことが知られている。同じく Thalassemia、Sickle cell anemia はマラリア多発地帯に多く、近年

慢性腎不全のリスクを高めることが報告されている。Thalassemia および Sickle cell anemia の各疾患はいずれも慢性的な貧血を伴い、溶血により塞栓を形成し、虚血性病変を引き起こすものと推測される。今回対象とする地域では、Thalassemia および Sickle cell anemia は認められないが、高頻度に G6PD 欠損症が認められ、慢性的な虚血病変を生じる可能性が想定される。

そこで我々は、2 地域の疫学研究に参加した集団に対して、感受性遺伝子の探索のため、①患者対照研究による全ゲノムに亘る相関解析、②G6PD の遺伝子異常の解析と創始者変異の探索および③それを用いて G6PD アリルと慢性腎疾患の相関解析、飲酒歴が関与する可能性が考えられることから、④ALDH2 の変異の探索を行い、遺伝的感受性の探索を行う。

2. ネットワーク構築の実現可能性

近年の慢性腎疾患の増加は、アジア・アフリカの共通した課題であり、糖尿病・慢性糸球体腎炎で必ずしも説明できない点が、予防あるいは医療介入を困難にしている。共通点として、いずれもマラリア多発地帯であり、これら地域の住民、大よそ 8 億人が、長い歴史の中で適応するために、Thalassemia, Sickle cell anemia や G6PD 欠損症などの変異を獲得してきた。これら遺伝要因が、環境要因（感染症やアルコールの常用、農薬などの曝露）とあいまって慢性腎疾患を引き起こしている可能性がある。したがって、本研究は、スリランカに焦点をあてるが、この課題は、アジア・アフリカ諸国に共通である。

スリランカでは、上記に述べたように多面的な手法で慢性腎疾患の原因の究明を目指す。スリランカは、内戦時において欧米インドがタミール人を支援した経緯もあり、複雑な政治状況で欧米からの援助は閉ざされており、我が国の医学研究および本課題に関連した人材育成の両面において期待は高い。これらにより、スリランカでの経験は、スリランカをはじめとするアジア・アフリカ諸国に、欧米とは異なる医学・公衆衛生学ネットワークの構築が必然的に形成される。また、導入された研究体制、解析手法、およびこれらの技術移転は、アジア・アフリカでの国際標準の創出の可能性を秘めている。

3. 本制度により取組を支援する必要性

ODA による技術協力は、人材育成と技術移転など将来の国の根幹となる労働力作りやその基盤づくりが目的とされている。研修員受入れ、専門家派遣、開発調査、最新機材の供与などがされている。本課題は、喫緊に解決すべき医学研究上の課題であり、既に解決法が知られているものではなく、研究的な要素が大きいため、緊密な共同研究が必要となる点で ODA や、既存の研究開発プログラムではカバーできない。

本研究課題の成果は、スリランカ国民の保健に関するものであり、治療薬の開発や創薬などの成果に結びつくものではなく、産業主導で行うべき研究開発活動ではない。

日本学術振興会科学研究費補助金については、本課題研究分担者である原田が基盤研究 (B) (海外調査) を採択中 (本提案者である小泉は連携研究者) で、スリランカにおける疫学調査を目的としているが、規模が少額であり、本提案課題の予備的調査と位置づけ、本提案課題を進展させる初期的研究である。

4. 継続性

スリランカ国内の内戦の終結により、今後、北東部の開発地域における農業振興はスリランカの今後の経済発展を支える重要な基盤形成にあたる。そのため、スリランカ政府およびペラデニヤ大学の慢性腎疾患への取り組みには強い共同研究継続への意思が感じられる。同国の医療は制度的には極めて整備されており、最新技術や医療機器の整備でかなり質の高い予防から治療、さらには介護まで含めた包括医療が供給される。これは京都大学にとっては極めて魅力的な研究フィールドであり、学内の医学系・環境・農業・工学のフィールド研究を行う分野が共同して参加することが検討されている。このプロジェクトを通じ、解明された原因に基づき予防的介入および早期診断による公衆衛生施策が導入される。さらには、人材育成を通じ、医学保健分野の多面的な協力関係が築かれる。

5. 相手国・地域との政府レベルでの協力関係の強化・構築への発展性

a. 当該研究計画に関する相手国政府の関心

スリランカ政府は、慢性腎疾患の問題を重要ととらえており、我々は厚生省次官との面談でも協力を要請された。この事情は、現地日本大使館も把握している。しかし、現状では安全確保のための地雷除去が第一の我が国政府への要請であり約 2.2 億円の援助がなされた。日本国外務大臣は、国内の経済再建の取り組みに対して、支援してゆくことを何度も表明してきた。本提案は、国内の経済再建に関わる保健分野の大きな課題であり、我が国が表明してきた立場を具現化するものと考えられる。

b. 政府レベルでの協力関係への展開構想 (様式 10-4 と関連)

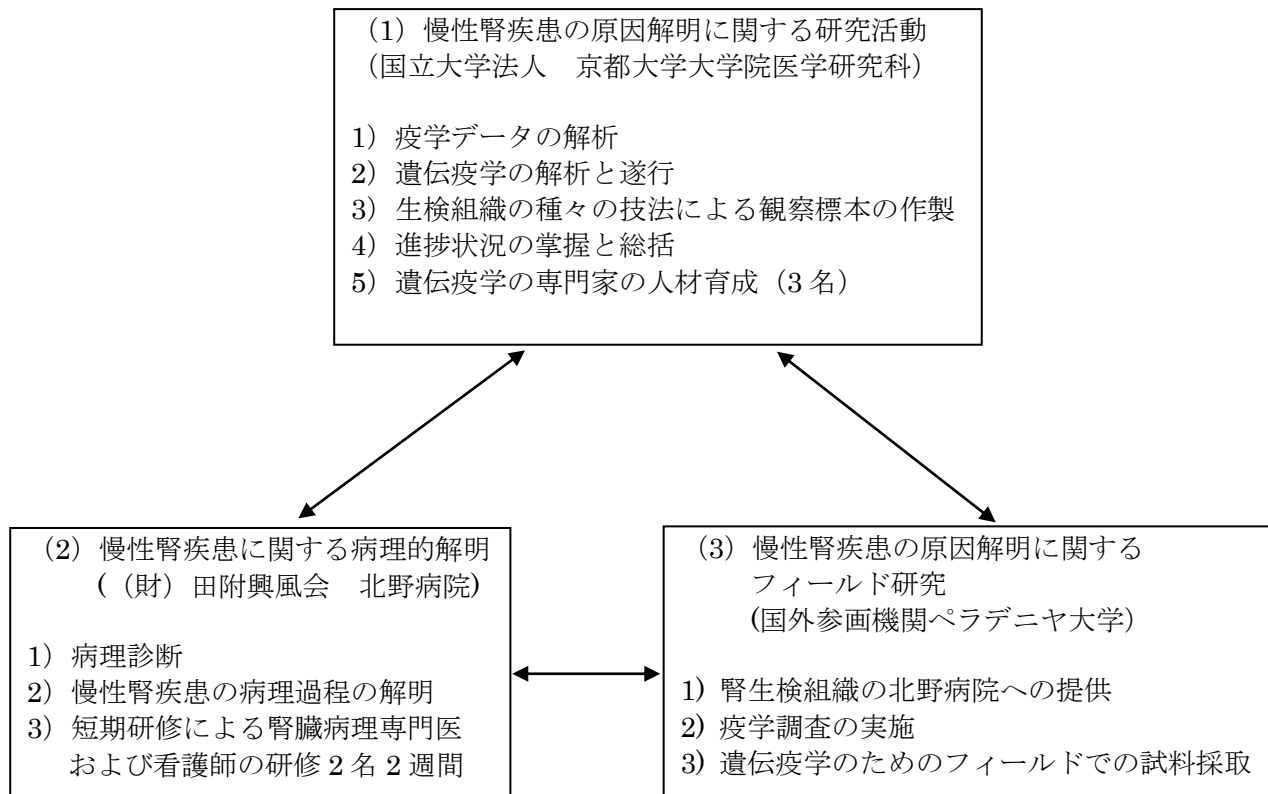
本年 1 月下旬に行われた、スリランカ大統領選挙において、民主的にラージャパクサ現大統領が再選され、我が国は、スリランカ政府が昨年 10 月より進展している国内避難民の再定住を早期に完了させるとともに、国民が一致団結して経済再建への取り組んでいくことを支援する考えを表明している。国内紛争の原因として、貧困問題があり、乾燥地域である同国北東部への定着が可能となれば、農業振興が加速され、人工透析に拠出される膨大な医療費を他に向けることができる。現在日本政府は、難民定着を促進するために地雷除去の支援を行っているが、保健医療分野の問題が未解決である。この点については本プロジェクトで補完できる。同国は、ヨーロッパ米国との関係は内紛時に、反政府勢力を欧米各国が支援した経緯があり、必ずしも良好でない。主な支援依頼先は、中国・韓国・日本である。本事業を通じて、我が国は効率よく北東部への農民の定着を可能とし、スリランカ政府を支援できる。

6. 生命倫理・安全面への配慮について

腎臓の生検試料は、すべて医療上必要なケースであり、本研究の目的のために生検を行うことはない。本研究については、既にペラデニヤ大学の倫理委員会の承認を得ている。日本における遺伝子解析については、文部科学省、厚生労働省の「疫学研究に関する倫理指針」に則って、京都大学医の倫理委員会ですでに審理、承認されており、この方法を遵守して施行する。また、スリランカから国外にヒトの生体試料を持ち出すことは禁止されているが、スリランカ厚生省から、例外的にペラデニヤ大学での倫理審査による承認をもって、ペラデニヤ大学から京都大学への生体試料の持ち出しには許可とすることが認められている。

7. 研究実施体制

- 提案課題名 「スリランカで多発する慢性腎疾患の原因究明」
○研究代表者名 「小泉 昭夫」
○代表機関名 「国立大学法人 京都大学 (大学院医学研究科) 」
(実施予定期間：平成 22 年度～平成 24 年度)



氏名	所属部局・職名	提案課題における役割
小泉 昭夫	京都大学大学院医学研究科 教授	総括
原田 浩二	京都大学大学院医学研究科 准教授	スリランカでの疫学調査および遺伝疫学調査に参画とデータ解析、短期トレーニング
人見 敏明	京都大学大学院医学研究科 特定講師	スリランカでの疫学調査および遺伝疫学調査に参画とデータ解析、短期トレーニング
奥田 裕子	京都大学大学院医学研究科 特定研究員	疫学調査およびデータ処理、ゲノム解析
武曾 恵理	(財) 田附興風会 北野病院 腎臓内科 部長	病理診断および短期トレーニング
弓場 吉哲	(財) 田附興風会 北野病院 臨床部長	病理医の短期トレーニング
古宮 俊幸	(財) 田附興風会 北野病院 腎臓内科 副部長	病理診断および短期トレーニング
Rohana Chandrajith	ペラデニヤ大学 理学研究科 教授	スリランカ・ペラデニヤ大学での体制の組織化と研究の実施
Neelakanthi Ratnatunga	ペラデニヤ大学 医学研究科 教授	スリランカ・ペラデニヤ大学での体制の組織化と研究の実施
Shanika Nanayakkara	京都大学大学院医学研究科 大学院生	病理診断および疫学調査、遺伝疫学調査への参加、ゲノム解析
Lalantha Senevirathna	京都大学大学院医学研究科 博士研究員	疫学調査およびデータ処理、ゲノム解析
渡辺 孝男	東北文教大学 教授	重金属の曝露評価
原口 浩一	第一薬科大学 教授	有機化合物の分析および曝露評価

8. 各年度の計画と実績

a. 平成 22 年度

(1) 計画

(a) スリランカで多発する慢性腎疾患の原因究明に関する研究

- (1) 病理組織の手配と準備
- (2) 疫学の準備
- (3) 遺伝疫学の準備

(b) 腎臓病理所見の解析

- (1) 病理組織標本の解析

(c) 慢性腎疾患のフィールド調査

- (1) 病理組織標本の送付
- (2) フィールド調査の準備

(d) 研修

- (1) 遺伝疫学および環境保健 1 名長期研修

(2) 実績

(a) スリランカで多発する慢性腎疾患の原因究明に関する研究

- (1) 病理組織の手配と準備
64 名の患者組織標本を準備した。
- (2) 疫学の準備
調査のプロトコル作成を行った。
- (3) 遺伝疫学の準備
調査のプロトコル作成、試料調製の準備を行った。

た。

(b) 腎臓病理所見の解析

- (1) 病理組織標本の解析
64 名の患者組織標本の解析を行った。

(c) 慢性腎疾患のフィールド調査

- (1) 病理組織標本の送付
64 名の患者組織標本が送られた。
- (2) フィールド調査の準備
調査対象 2 地域の選定を行った。

(d) 研修

- (1) 遺伝疫学および環境保健 2 名長期研修
スリランカ人研究者 2 名の研修を行った。

b. 平成 23 年度

(1) 計画

(a) スリランカで多発する慢性腎疾患の原因究明に関する研究

- (1) 疫学および遺伝疫学の実施
- (2) データの解析

(b) 腎臓病理所見の解析

- (1) 病理組織標本の解析

(c) 慢性腎疾患のフィールド調査

- (1) 病理組織標本の送付
- (2) フィールド調査の準備

(d) 短期研修

- (1) 病理医 北野病院での研修 1 名 2 週間
- (2) 看護師 北野病院での研修 1 名 2 週間

(2) 実績

(a) スリランカで多発する慢性腎疾患の原因究明に関する研究

- (1) 疫学および遺伝疫学を実施した。
- (2) データの解析を行った。

(b) 腎臓病理所見の解析

- (1) 病理組織標本を解析し、所見をまとめた

(c) 慢性腎疾患のフィールド調査

- (1) 病理組織標本の採取を完了し、日本へ送付した。
- (2) フィールド調査を行い、環境試料、患者検体を送付した。

(d) 短期研修

- (1) 病理医 北野病院での研修 1 名 2 週間
- (2) 看護師 北野病院での研修 1 名 2 週間
についての研修を完了した。

c. 平成 24 年度

(1) 計画

(a) スリランカで多発する慢性腎疾患の原因究明に関する研究

- (1) 病理組織の解析を完了する。
- (2) 疫学のまとめを行う。
- (3) 遺伝疫学の全エクソン配列解析 (Exome) の実施と解析

(4. 試料の重金属の解析とまとめ

(b) 腎臓病理所見の解析

(1. 病理組織標本の解析をまとめる。

(c) 慢性腎疾患のフィールド調査のまとめ

(1. 病理組織標本の解析結果をまとめる。

(d) 新たな遺伝疫学の技術 Exome のトレーニングと実習

- (1. 研究員 1 名

9. 年次計画

研究項目	1 年度目	2 年度目	3 年度目
(1) スリランカで多発する慢性腎疾患の原因究明に関する研究 (代表機関) 京都大学	1) 病理組織標本の手配と準備 2) 疫学の準備 3) 遺伝疫学の準備 23 百万円	1) 疫学と遺伝疫学の準備 2) データの解析 27 百万円	疫学の実施 27 百万円 取りまとめ
	遺伝疫学および環境保健研修 (2 名)		Exome 研修 (1 名)
(2) 腎臓病理所見の解析 (国内参画機関: 北野病院)	病理組織標本の 0 百万円 (京都)	解析 大学一括計上) 短期研修 2 名	
(3) 慢性腎疾患のフィールド調査 (国外参画機関 ペラデニヤ大学)	病理組織標本の送付 1 百万円		
	フィールド調査の準備 2 百万円	1 百万円 フィールド調査の実施 3 百万円	1 百万円 まとめ 2 百万円