

なくとも3つ (*Nidd1*, *Nidd2*, *Nidd3*) 異なる染色体上にマップされた。各遺伝子座はそれぞれ耐糖能を軸に異なる関連表現型と連鎖を示しており、耐糖能を規定するメカニズムの異なるステップで糖尿病に関与していることが示唆された。*Nidd1* はインスリン抵抗性の指標である基礎インスリン分泌と全く連鎖を認めないことからインスリン分泌障害を介して糖尿病に関与するのに対して、*Nidd2* はインスリン抵抗性を介して糖尿病に関与する可能性が考えられる。*Nidd3* はインスリン抵抗性と内臓脂肪蓄積の両者に関与する遺伝子座である。*Nidd1* の存在する第11染色体ならびに *Nidd3* の存在する第6染色体には各少なくともあと一つ別の遺伝子が存在する可能性も示唆されており、これらの染色体全体を置換したコンソミックマウスを作製することにより、各遺伝子の機能ならびに局在を解析し、遺伝子の本体の同定を進めている。今後、各遺伝子座の原因遺伝子を同定することにより、インスリン分泌、抵抗性、内臓脂肪蓄積などの相互作用と耐糖能との関連を遺伝子レベルで解明することが可能となる。さらに、得られた情報をヒトにフィードバックすることにより、ヒト2型糖尿病の遺伝子解析が大きく前進するものと期待される。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) Ueda H, Ikegami H, Kawaguchi Y, Fujisawa T, Yamato E, Shibata M, Ogihara T: Genetic analysis of late-onset type 2 diabetes in a mouse model of human complex trait. *Diabetes* 1999 (in press)
  - (2) Fujisawa T, Ikegami H, Yamato E, Kawaguchi Y, Ueda H, Shintani M, Nojima K, Kawabata Y, Ono M, Nishino M, Noso S, Yamada K, Babaya N, Okamoto N, Ohguro N, Fukuda M, Ogihara T: Association of plasma fibrinogen level and blood pressure with diabetic retinopathy and of renal complications with proliferative diabetic retinopathy in Type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 1999 (in press)
- #### 2. 学会発表
- (1) Ikegami H: Genetic dissection of insulin-dependent diabetes gene, *Idd3*: application of a novel strategy for pinpointing candidate mutations of complex traits. Joslin Diabetes Center 100th Anniversary Symposium on Diabetes Mellitus: from patients to genes and back. Oct 21, 1998,
  - (2) Ikegami H, Makino S, Kawaguchi Y, Ogihara T: Marker-assisted congenic strategy in combination with historical recombinants for pinpointing candidate genes for complex traits: application for an insulin-dependent susceptibility gene (*Idd3*) of the nonobese diabetic (NOD) mouse. 12th International Mouse Genome Conference. Oct 2, 1998, Germany

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業）  
分担研究報告書

日本人 NIDDM の原因遺伝子の解析

分担研究者 岩崎 直子 東京女子医科大学・糖尿病センター 講師  
共同研究者 岩本 安彦 東京女子医科大学・糖尿病センター 所長

研究要旨:多因子遺伝疾患である日本人 NIDDM の遺伝素因を解明するために 194 家系(約 300 組の同胞対)のコホートを収集し、昨年度より引き続いて罹患同胞対法を用いた解析を続行中である。約 390 個のランダムマーカーのタイピングがほぼ完了し、現在結果を解析中であるが、NIDDM1、NIDDM2 の両遺伝子が原因遺伝子である可能性は否定的である。また、単一遺伝子の異常により発症する MODY の原因遺伝子として新たに HNF-3 $\beta$  遺伝子の変異が見出され、本遺伝子の機能を解析中である。HNF-1 $\beta$ /MODY5 症例では腎機能、肝機能に異常が認められ、HNF-1 $\beta$  遺伝子の機能との関連が示唆された。さらに、BETA2/NeuroD1 (NEUROD1)、Nkx2.2(NKX2B)、IPF-1/MODY4 および Glucokinase/MODY2 遺伝子についても検討したがこれらの遺伝子に変異は認めなかった。現時点では日本人 MODY の成因として転写因子の異常が重要であることが示された。

A. 研究目的

日本人糖尿病の大部分は NIDDM であり、しかも NIDDM においては遺伝素因が発症に大きく関与することから NIDDM の遺伝素因を解明することは増加しつつある糖尿病の予知・予防対策として急務の課題と考えられる。NIDDM の 90-95%は多因子遺伝(multifactorial inheritance)である。発症に特に強い影響を有する遺伝子を主働遺伝子(major gene)と呼び、メキシコ系アメリカ人やスウェーデン人においてその存在が明らかにされたが、このような高い浸透率を有する原因遺伝子が日本人 NIDDM においても存在するか否かという点は明らかにされていない。罹患同胞対法を用いた日本人 NIDDM の遺伝解析を行い、主働遺伝子の有無を含めた疾患感受性遺伝子座位を全ゲノムレベルでマッピングすることを目的とする。

さらに、残る 5-10%は単一遺伝子異常により生じる糖尿病であり、MODY やミトコンドリア遺伝子異常に伴う糖尿病が含

まれる。発症年齢別にみた糖尿病の病型については、我が国では 25 歳未満診断例では NIDDM は決して少なくはなく(我々の調査では約 50%)、この集団の 95%は IDDM であるという白人とは著しい差異を認めることから、日本人の糖尿病の遺伝素因の解明のためにはこの若年発症糖尿病例、特に濃厚な遺伝背景を有する MODY 症例の遺伝解析も極めて重要である。MODY 症例の収集と原因遺伝子の解析を行う。

B. 研究方法

対象として、少なくとも 2 名の糖尿病同胞対が認められる家系を今後 1 年で 100 対収集する。その際、研究の内容について患者に説明し、同意を得る。第 2 段階として、これらの患者から抽出した DNA サンプルについてランダムマーカー遺伝子のタイピングを行う。具体的には、全染色体上に平均約 10 センチモルガンの間隔で分布する約 390 個のランダムマーカーパネルを用いる。第 3 段階ではコンピュータープロ

グラムにより、上記のマーカーについて NIDDM との連鎖の有無を解析する。two-point analysis には SPLINK および SIBPAIR を、multipoint analysis には GENEHUNTER を用いる。

また、MODY の原因遺伝子の検索に関しては、転写因子の異常が MODY の成 因として重要であることが昨年度の研究で 明らかにされたため、さらに隣発生および  $\beta$  細胞の分化成熟に関与する転写因子である BETA2/NeuroD1(NEUROD1)、Nkx2.2 (NKX2B)、IPF-1/MODY4 および HNF-3  $\beta$  遺伝子の変異の有無を直接塩基配列決定法により検討した。さらに、白人では高頻度 に認められるが日本人では未検討であった Glucokinase/MODY2 遺伝子の検討を行った。また、これまでに遺伝子変異が同定された 症例は、全例肝細胞転写因子遺伝子の変異 であったため、MODY の臨床的特徴を明 らかにするために、肝細胞で特異的に合成 分泌される蛋白の測定を含めた臨床パラメ ーターについて検討を加えた。

#### C.研究結果 および D.考察

罹患同胞対法に関しては、東京女子医 科大学ではシカゴ大学との従来からの共同 研究により約 300 組について検討中であっ たが、現時点でタイピングはほぼ完了した。 現在結果を解析中であり、間もなく最終的 な結論が得られる予定である。日本人 NIDDM では、メキシコ系アメリカ人で報 告された NIDDM1 と、北欧で連鎖が示さ れた NIDDM2 とともに連鎖は認められてい ないことより、NIDDM の遺伝背景には人 種差が存在することが示唆され、改めて日 本人独自の解析の重要性が再認識された。

当施設では昨年度までに 194 家系(約 300 組の同胞対)のサンプルを収集したが、今 年度は新たに 50 組収集した。second screen 用のサンプルとして少なくともあと 50 組 収集し、平成 11 年度内に再現性について の検討を行う。

MODY の原因遺伝子の解析に関しては、 BETA2/NeuroD1(NEUROD1)、Nkx2.2(NKX2B)、 IPF-1/MODY4 および Glucokinase/MODY2 遺伝子の変異は我々の対象とした MODY のパネルでは見出されなかった。しかし、 HNF-3  $\beta$  遺伝子の変異が新たに同定され、 糖尿病の発症機構について検討中である。 これまでに同定された MODY3/HNF-1  $\alpha$  症 例 12 例、MODY1/ HNF-4  $\alpha$  症例 4 例、 MODY5/HNF-1  $\beta$  症例 3 例間においては、 測定した肝細胞特異的に合成分泌される蛋 白に明らかな差は認められず、いずれも正 常範囲を示した。ただし、MODY5/HNF-1  $\beta$  症例では、腎機能の障害が存在し、さら に肝機能にも原因不明の異常が認められた。 糖尿病診断時年齢は平均 20 歳であるが、 学校検尿を契機に糖尿病を診断されている 例が少なくなく、肥満を認めないこと、イン スリン治療例が多いことなどが特徴とし て上げられる事などを報告した。従って、 MODY の早期発見には学校検尿が有用で あると考えられ、家族歴を有し、肥満を認 めないケースについては、MODY 症例で ある可能性を考慮し、MODY では進行性 の経過を辿る例も稀でないことから、一次 スクリーニング後の取り扱いを確立し、無 症状であってもその後定期的な医師の管理 から漏れることのないように配慮すること が望ましい。MODY のなかで遺伝子変異 が同定された症例は全体の 80%であり、今

後も候補遺伝子の検索を継続する。

#### E. 結論

罹患同胞対法を用いた NIDDM の疾患感受性遺伝子座位の検討に関しては全ゲノムレベルの first screen がほぼ完了し、近く解析結果が得られる予定である。MODY の原因遺伝子の検索に関しては新たに HNF-3 $\beta$  遺伝子の変異が同定された。BETA2/NeuroD1 (NEUROD1)、Nkx2.2 (NKX2B)、Glucokinase/MODY2 および IPF-1/MODY4 遺伝子についても検討したが、上記の各遺伝子に変異は認められなかった。MODY3/HNF-1 $\alpha$ 、MODY1/HNF-4 $\alpha$ 、MODY5/HNF-1 $\beta$  遺伝子変異を有する MODY の特徴として、肥満を認めないこと、インスリン分泌の低下が認められた。MODY5/HNF-1 $\beta$  では腎機能、肝機能の異常が認められた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) N. Iwasaki, M. Ogata, O. Tomonaga, H. Kuroki, T. Kasahara, N. Yano, Y. Iwamoto. Liver and kidney function in Japanese patients with maturity onset diabetes of the young. *Diabetes Care* 21: 2144-2148, 1998
- (2) H. Huruta, Y. Horikawa, N. Iwasaki, M. Hara, L. Sussel, M. M. le Beau, E. M. Davis, M. Ogata, Y. Iwamoto, M.S. German, G.I. Bell.  $\beta$ -cell transcription factors and diabetes. Mutations in the coding lesion of the BETA2/NeuroD1 (NEUROD1) and Nkx2.2 (NKX2B) genes are not associated with

maturity-onset diabetes of the young in Japanese.

*Diabetes* 47:1356-1358, 1998

- (3) M. Hara, T.H. Lindner, V.P. Patz, X. Wang, N. Iwasaki, M. Ogata, Y. Iwamoto, G.I. Bell.

Mutations in the coding lesion of the insulin promoter factor-1 gene are not a common cause of maturity onset diabetes of the young in Japanese subjects.

*Diabetes* 47:845-846, 1998

##### 2. 学会発表

- (1) 岩崎直子、高橋良当、井上幸子、尾形真規子、岩本安彦  
糖尿病性有痛性神経障害におけるミトコンドリア遺伝子異常の頻度とその臨床像  
第 95 回日本内科学会総会 平成 10 年 4 月 9-11 日 福岡市 内科学会雑誌 87 巻臨時増刊号 303 (1998)
- (2) 岩崎直子、織田直久、古田浩人、堀川幸男、尾形真規子、矢野伸樹、岩本安彦  
HNF-1 $\alpha$ 、1 $\beta$  および 4 $\alpha$  遺伝子異常を有する糖尿病の臨床的特徴に関する検討  
第 41 回日本糖尿病学会学術総会 平成 10 年 5 月 14-16 日、和歌山市 糖尿病 48:Supple 1:184
- (3) 岩崎直子  
NIDDM の発症分子機構  
第 71 回日本内分泌学会学術総会 シンポジウム  
平成 10 年 6 月 6 日、福岡市
- (4) N. Iwasaki, M. Ogata, Y. Iwamoto.  
Clinical characteristics of MODY in

Japanese

58th Annual Scientific Meetings and Sessions of American Diabetes Association. June 13-16, 1998 Chicago, Diabetes 47:Supple (1) A177

(5) 岩崎直子

A search for type 2 diabetes susceptibility genes in Japanese.

第 10 回内藤カンファランス「難病の分子生物学[1]」平成 10 年 10 月 29 日-11 月 1 日、葉山町

(6) 岩崎直子

Clinical characteristics of MODY in Japanese

文部省国際シンポジウム "International Symposium on New Horizon in the Pathogenesis of Diabetes Mellitus"

平成 10 年 11 月 3-4 日、京都市

(7) N. Iwasaki, M.Ogata, Y.Iwamoto

Clinical characteristics of MODY in Japanese.

Wakayama Forum "A Significance of Transcriptional factors as a Pathogenesis in NIDDM" November, 20, 1998 Osaka

(8) 檜尾好徳、堀川幸男、岩崎直子、豊田

隆謙、G.I. Bell. Human hepatocyte nuclear factor-3 $\beta$  遺伝子構造の決定とその異常—日本人 MODY 患者におけるスクリーニングおよび機能解析—

第 10 回分子糖尿病学シンポジウム 平成 10 年 12 月 5 日、松山市

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業）  
分担研究報告書

糖尿病発症に関与する遺伝子の単離・同定に関する研究  
分担研究者：岡 芳知 山口大学第3内科

研究要旨：MODY（若年発症成人型糖尿病）の遺伝子のひとつとして同定された HNF-1 $\alpha$  の遺伝子異常による糖尿病発症機序を、膵 $\beta$ 細胞株への変異遺伝子の導入発現より検討し、truncated form となる HNF-1 $\alpha$  遺伝子異常では、細胞内では dominant negative 効果により内因性の HNF-1 $\alpha$  の機能を抑制すること、膵 $\beta$ 細胞株 MIN6 では、アルギニンによるインスリン分泌障害をきたすことを見出した。

A. 研究目的

若年発症成人型糖尿病（MODY）の原因遺伝子のひとつとして転写因子である hepatocyte nuclear factor-1 $\alpha$  (HNF1- $\alpha$ ) が同定された。この遺伝子異常がどのような分子機構で糖尿病を発症するかを解明する。

B. 研究方法

MODY 患者ではインスリン分泌障害が認められること、また、HNF-1 $\alpha$  が膵 $\beta$ 細胞にも発現していることから、マウス膵 $\beta$ 細胞株 MIN6 を用いて、HNF-1 $\alpha$  遺伝子変異によるインスリン分泌障害機序を検討することとした。このために、まず、ヒト HNF-1 $\alpha$  のシーケンスをもとに、MIN6 から RT-PCR によりマウス HNF1 $\alpha$  cDNA をクローニングした。次いで、MODY3 患者で同定された P291fsinsC 変異に相当する truncated cDNA (HNF1 $\alpha$ -288t) を作成した。この cDNA を用いて、変異 HNF-1 $\alpha$  の発現のための組換えアデノウイルス Adex1CA-HNF1 $\alpha$ -288t を作成した。コントロールとしては、 $\beta$ -galactosidase を発現する組換えアデノウイルス Adex1CA-lacZ を用いた。これらのウイルスを MIN6 細胞に感染させ、5 日間培養後、各種刺激下でのインスリン

分泌を解析した。

C. 研究結果

まず、肝癌細胞株 HepG2 を用いて beta-fibrinogen 遺伝子をレポーターとして HNF1 $\alpha$  の promoter activation を検討すると、wild-type の発現では 6.9 倍の上昇が見られたのに対し、truncation form である HNF1 $\alpha$ -288t を同時に発現させると 1.3 倍にとどまった。これにより、HNF1 $\alpha$ -288t が dominant negative に細胞内で働くことが確認できた。

そこで、次に MIN6 細胞へ HNF1 $\alpha$ -288t を過剰発現させ、発現をウエスタンブローディングで確認した。5 mM glucose 存在下でのインスリン分泌は、MIN6-HNF1 $\alpha$ -288t と Adex1CA-lacZ 感染 MIN6 細胞 (MIN6-lacZ) との間に有意な差はなかった。25 mM glucose 刺激においても、MIN6-HNF1 $\alpha$ -288t と MIN6-lacZ でインスリン分泌は、5 mM glucose 存在下での分泌量の 9.1  $\pm$  0.7 倍および 11.2  $\pm$  0.9 倍に増加し、両者の間に有意な差を認めなかった。しかし、5 mM glucose 存在下での 20 mM arginine 刺激では、MIN6-lacZ ではインスリン分泌が 5 mM glucose 存在下の 8 倍に増加したのに対し、

MIN6-288t ではインスリン分泌の増加は1.6 倍にとどまり、arginine 刺激に対するインスリン分泌の著しい障害が認められた。なお、arginine の細胞内への輸送に関わる cationic amino acid transporter の発現を検討したが、減少は認められなかった。

#### D. 考察および結論

今回解析した truncated form となる HNF-1  $\alpha$  遺伝子異常では、細胞内では dominant negative 効果により内因性の HNF-1  $\alpha$  の機能を抑制した。MIN6 細胞への発現で認められた、arginine 刺激に特異的なインスリン分泌障害が糖尿病の発症にどのようにつながるのかは、今後の研究課題である。

#### F. 研究発表

##### 論文発表

Tanizawa Y, Ohta Y, Nomiya J, Tanabe K, Inoue H, Matsutani A, Okuya S and Oka Y. Overexpression of dominant negative mutant hepatocyte nuclear factor (HNF)-1  $\alpha$  inhibits arginine-induced insulin secretion in MIN6 cells. Diabetologia in press, 1999

厚生科学研究補助金（ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業）  
分担研究報告書

糖尿病発症に関与する遺伝子の単利・同定に関する研究  
分担 研究者 門脇 孝 東京大学大学院医学系糖尿病・代謝内科 講師

研究要旨：本研究では、多因子遺伝病としての common NIDDM の全ゲノムマッピングを行う目的で罹患同胞対 250 組の DNA と詳細な臨床情報とを集積し、全ゲノムの 400 前後のマーカーにより NIDDM 遺伝子座のマッピングが進行中である。候補遺伝子アプローチでは、インスリン分泌低下と関連すると思われるアミリン遺伝子の異常 (Ser20Gly) や、肥満と関連すると思われる  $\beta 3$  アドレナリン受容体多型 (Trp64Arg)、 $\beta 2$  アドレナリン受容体多型 (Gln27Glu) を同定した。これらの遺伝子異常や遺伝子多型は NIDDM への疾患感受性を高めると考えられ、我が国 NIDDM の遺伝素因の一部を説明しうると考えられる。

A. 研究目的

日本の糖尿病患者数は 690 万人と推定されており、さらに増加すると予測されている。また、糖尿病予備群と呼ばれる将来糖尿病になる可能性がある耐糖能異常をあわせ 1370 万人にも達している。従って、糖尿病になりやすい体質すなわち遺伝素因を有する者の適切な生活指導により、糖尿病患者の発症率を抑制することが quality of life の向上および糖尿病に関連した医療費の節減の観点から重要であり、かつ現実的である。日本人糖尿病の大部分は NIDDM であり、しかも NIDDM においては遺伝素因が発症に強く関与することから NNIDDM の遺伝素因をまず解明することが急務と考えられる。NIDDM の 90% 以上は多因子遺伝(multi factorial inheritance)である。従って、common NIDDM 遺伝子の同定は従来の候補遺伝子アプローチや単一遺伝子の連鎖解析法では原理的に困難である。罹患同胞対法は多因子遺伝疾患のシステムティックな解析に極めて有用であり、既にインスリン依存型糖尿病や本態性高血圧などの代表的な多因子遺伝疾患の解析においてその威力が発揮された。罹患同胞対法は、

①遺伝形式を考慮に入れない、②疾患感受性遺伝子の数を考慮に入れない、③環境因子を考慮に入れない、④大家系を必要としない、⑤“非罹患者”や“未発症者”を必要としない、⑥ゲノムを偏りなく系統的に解析できる、などの点で、common NIDDM 遺伝子の解析に適している。しかし、罹患同胞対法を NIDDM 遺伝子に適用する際、①同胞間相対危険率 ( $\lambda_s$ ) が IDDM に比し 1 ケタ低い NIDDM の場合は、1 ケタ多い症例数を必要とする可能性、②NIDDM の病態の多様性 (若年発症 vs 中年以降の発症、インスリン分泌低下 vs 抵抗性など) が解析を複雑にする可能性、③同様の病態を呈する NIDDM であっても人種毎に糖尿病遺伝子がかなり異なる可能性など、この解析に困難な点も少なくない。しかし、遺伝子プールが比較的均一と考えられる日本人 NIDDM では罹患同胞対法を用いた遺伝子マッピングの成功が強く期待される。更に、罹患同胞対法と相補的アプローチと考えられる TDT (transmission disequilibrium test) を用いた NIDDM 遺伝子マッピングも同時にすすめてゆきたい。



## B. 研究方法

1. Common NIDDM 遺伝子全ゲノムマッピング: ABI の GENESCAN を用いて 400 個前後のマイクロサテライトマーカーの多型性を決定する。その後、GENEHUNTER などのプログラムを用いて同胞間の比較を行い、有意な遺伝子座位を決定する。

2. 候補遺伝子アプローチ: 当該遺伝子のエクソン・イントロン構造に基づき、各エクソン及びエクソン・イントロン接合部を PCR にて増幅し、ABI sequencer dye ターミネーター法を用いて、直接塩基配列を決定する。

## C. 研究結果

1. Common NIDDM 遺伝子全ゲノムマッピング: これまで東京大学糖尿病・代謝内科及び朝日生命糖尿病研究所において NIDDM 罹患同胞対 250 組を集積した。罹患同胞対の構成は、同胞人数が 2 人が 153 家系、3 人が 25 家系、4 人が 2 家系、5 人が 1 家系の計 181 家系、250 組である。250 組全てについて同胞 2 人の DNA を集積した。また、全員について、詳細な家族歴、肥満度 (現在・既往最大)、発症年齢、インスリン分泌能、治療法などについての臨床情報を収集した。これらの対象につき、全ゲノム上に約 20cM おきに配置した 400 個前後のマイクロサテライトマーカーを用い、全ゲノムレベルでの遺伝子マッピングを行っている。また、他のいくつかの民族で common NIDDM との関連が認められる染色体 20 番長腕及び短腕の座位についても、検討をすすめている。

2. インスリン分泌に関する候補遺伝子アプローチ: 本研究では、日本人 NIDDM

の特徴であるインスリン分泌低下の候補遺伝子について検討した。アミリンは NIDDM 患者の膵ラ氏島に蓄積し、インスリン分泌低下へ関与する可能性が示唆されている。実際、アミロイド形成能が亢進することが報告されたアミリンのコードン 20 の Ser→Gly 変異は NIDDM200 名中 3 名に認められ、健常対照には認められず、一部の日本人 NIDDM 症例でインスリン分泌低下に関与している可能性がある。また膵β細胞、肝臓における転写因子 HNF (hepatocyte nuclear factor) -1β の遺伝子異常について全蛋白コード配列、エクソン・イントロン接合部の配列を NIDDM20 名で検討し、頻度の高い多型を同定し、現在 NIDDM との関連を検討している。

3. インスリン抵抗性に関する候補遺伝子アプローチ: 骨格筋グリコーゲン合成酵素異常 (GSY1) は NIDDM インスリン抵抗性の原因の可能性がある。実際、GSY1 にコードン 416 の Met→Val 多型が同定されインスリン抵抗性との関連が報告されている。しかし、今回の解析では、NIDDM では allele 頻度 0.11、健常対照では 0.10 と有意な差を認めなかった。Insulin receptor substrate-2 (IRS-2) ノックアウトマウスは予想されたインスリン抵抗性以外に膵β細胞の量が減少しており明らかな糖尿病を呈した。そこで、日本人 NIDDM の候補遺伝子として IRS-2 遺伝子解析を行った。その結果、IRS-2 遺伝子のコードンに 1057 に Gly→Asp の頻度の高い多型を同定した。現在、NIDDM と健常対照にて頻度の差を検討している。

4. 肥満の遺伝に関する候補遺伝子アプローチ

肥満は NIDDM の最大の発症因子であるが、肥満それ自身についても遺伝的な素因が強く関与をしている。肥満の候補遺伝子としては、①エネルギー消費と関係する  $\beta$  アドレナリン受容体、②脂肪細胞の分化調節因子である PPAR $\gamma$  などがあげられる。本研究では、 $\beta 3$  アドレナリン受容体  $\beta 2$  アドレナリン受容体及び PPAR (peroxisome proliferator activated receptor)  $\gamma$  の遺伝子変異や多型を BMI (body mass index)、V (visceral fat area : 内臓脂肪面積)、S (subcutaneous fat area : 皮下脂肪面積)、レプチンなどの臨床データのそろった健診受診者 278 名について検討した。1) エネルギー消費に関連する  $\beta 3$  アドレナリン受容体遺伝子 ( $\beta 3AR$ ) Trp 64 Arg 変異を同定した。日本人でのアリル頻度は約 20% と高率であった。Trp 64 Arg 変異は BMI 高値や内臓脂肪蓄積と有意な相関を認めた。2)  $\beta 2$  アドレナリン受容体 ( $\beta 2AR$ ) は  $\beta 3AR$  とともに脂肪組織におけるカテコラミンの生理的受容体の一つである。今回  $\beta 2AR$  に同定された Gln27Glu (Q27E) 多型の肥満・体脂肪分布への影響を検討した。249 人の Q/Q 型 (正常群)、28 人の Q/E 型 (変異群)、1 人の E/E 型を同定した。変異アリル頻度は 30/556=5.4%、変異群は平均 5.1 才若年であった。正常群、変異群の年齢補正した BMI は 24.4, 25.8 ( $p=0.02$ )、年齢補正した S(mm<sup>2</sup>) は 12995, 15936 ( $p=0.04$ ) と有意差を認めた、 $\beta 2AR$  の Q27E 多型は日本人男性において皮下脂肪蓄積による肥満と関連することが明らかとなった。3) 脂肪分化に関連する PPAR $\gamma$  遺伝子に新しい変異 (Pro 12Ala) を同定した。肥満、特に内臓脂肪蓄積やチアゾリジン誘導体への反

応性との関連につき検討したが、フランスでの既報と異なり、PPAR $\gamma$  は肥満や脂肪分布、インスリン感受性とは相関しなかった。

#### D. 考察

本研究では、多因子遺伝病としての common NIDDM の全ゲノムマッピングを行う目的で罹患同胞対 250 組の DNA とを集積し、全ゲノムの 400 前後のマーカーにより NIDDM 遺伝子座のマッピングが進行中である。日本人以外については全世界で 10 前後の研究グループで同様の NIDDM 遺伝子マッピングを行っており、これまで発表された 2 つの成績では、メキシコ系アメリカ人で染色体 2 番長腕に、またいくつかの民族では染色体 20 番の長腕及び短腕に NIDDM の有無に相関する座位を認めている。日本人罹患同胞対パネルで十分な規模を有しているのは、本研究と東京女子医大糖尿病センターのパネルのみであり、これら 2 つのパネルで日本人の common NIDDM 遺伝子が一日も早く明らかになることが発症前診断や生活習慣や薬物による介入により NIDDM の根本的予防法・治療法を確立する上で強く求められる。候補遺伝子アプローチでは、インスリン分泌低下と関連すると思われるアミリン遺伝子の異常 (Ser20Gly) や、肥満と関連すると思われる  $\beta 3$  アドレナリン受容体多型 (Trp64Arg)、 $\beta 2$  アドレナリン受容体多型 (Gln27Glu) を同定した。これらの遺伝子異常や遺伝子多型は NIDDM への疾患感受性を高めると考えられ、我が国 NIDDM の遺伝素因の一部を証明しうると考えられる。

#### E. 結論

全ゲノムマッピングと候補遺伝子アプローチという相補的な 2 つの手法を用いて、日本人 commonNIDDM 遺伝子解析を行っている。

$\beta 3$  及び  $\beta 2$  アドレナリン受容体に頻度の高い多型を同定し、肥満を介して commonNIDDM に関与している可能性を示唆した。罹患同胞対パネルを確立し、全ゲノムマッピングを開始した。1-2年以内に、日本人 NIDDM の遺伝子マッピングの完成が予定される。

#### F. 研究発表

1. Mori, Y., Kim-Motoyama, H., Ito, Y., Katakura, T., Yasuda, K., Ishiyama, S., Yamada, K., Akanuma, Y., Ohashi, Y., Kimura, S., Yazaki, Y., and Kadowaki, T. : The Gln27Glu  $\beta 2$ -adrenergic receptor variant is associated with obesity due to subcutaneous fat accumulation in Japanese men.  
Biochem. Biophys. Res. Commun. In press, 1999

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業）  
分担研究報告書

PI3 kinase p85  $\alpha$  subunit 遺伝子 variant M326I の頻度と臨床的意義について  
分担研究者 三家登喜夫 和歌山県立医科大学内科学第一講座 助教授

研究要旨： PI3 kinase p85  $\alpha$  regulatory subunit 遺伝子 variant M326I の日本人 NIDDM における頻度と臨床的意義について検討した。その結果、variant と考えられる I allele の出現頻度は NIDDM 患者で 16.4%、非糖尿病患者で 14.5%と両群間で有意差は認められなかった。NIDDM 患者及び非糖尿病患者を I allele 保有の有無により 2 群に分類し、それぞれの群におけるインスリン感受性（Minimal Model 法による Insulin Sensitivity Index にて評価）およびインスリン分泌能（IVGTT 時の血中インスリン反応およびグルカゴンテスト時の血中 C ペプチド反応で評価）を比較すると、I allele 保有の有無により、インスリン感受性には差がないが、インスリン分泌は I allele を保有する群で有意に保存されていた。

以上の結果より、インスリンの細胞内シグナル伝達に関与している PI3 kinase p85  $\alpha$  regulatory subunit がインスリン分泌、即ち  $\beta$  細胞におけるインスリンなどのシグナル伝達に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

遺伝子異常がその成因に関与する NIDDM の病態の特徴はインスリン分泌低下とインスリン抵抗性であるが、インスリンの細胞内シグナル伝達に関与する PI3-kinase p85  $\alpha$  regulatory subunit(PI3-K85)の遺伝子多型 M326I が白人において報告されている。そこで、本遺伝子多型の日本 NIDDM 患者における頻度と臨床的特徴について検討した。

B. 研究方法

NIDDM 患者 280 人と非糖尿病患者 100 名より得た genomic DNA を用いて、PCR/SSCP 法並びに PCR/RFLP 法（一部は direct sequencing 法）を用い PI3-K85 遺伝子多型 M326I のタイピングを行った。インスリン感受性は Minimal Model 法による Insulin Sensitivity Index にて評価、インスリン分泌能は IVGTT 時の血中インスリン反応およびグルカゴンテスト時の血中 C ペプチド反応を用いて評価した。

C. 研究結果

Variant と考えられる I allele の出現頻度は NIDDM 患者で 16.4%、非糖尿病患者で 14.5%と両群間で有意差は認められなかった。NIDDM 患者および非糖尿病患者を I allele 保有の有無により 2 群に分類し、それぞれの群におけるインスリン感受性とインスリン分泌能を比較すると、I allele 保有の有無により、インスリン感受性には差がないが、インスリン分泌は I allele を保有する群で有意に保存されていた。

D. 考察

PI3-K85 遺伝子多型 M326I の日本人における出現頻度白人とほぼ同程度であった。また、NIDDM 患者における頻度は非糖尿病患者と有意差はなく、本変異（多型）が NIDDM 発症に関与している可能性は低いと思われた。また、糖尿病の有無にかかわらず本多型を保持するものではインスリン分泌能が有意に保存されていた。本遺伝子と同様インスリンの細胞内シグナル伝達に

関与すつグリコーゲン合成酵素(GS)の遺伝子変異 M416V を保有すつ者ではインスリン感受性が低下していることを既に報告しているが、今回、PI3-K85 と同時に GS 遺伝子の M416V 変異の有無を同様に検討した。その結果、インスリン感受性に関連する M416V 変異の有無でインスリン分泌能には差が認められなかった。このことより、PI3-K85 遺伝子 M326I 多型保有者でインスリン分泌が保持されているのは本多型によるインスリン感受性低下を介しているのではなく、PI3-K85 がインスリン分泌、即ちβ細胞におけるインスリンなどのシグナル伝達に直接的に関与している可能性が強く示唆された。

#### E. 結論

PI3-kinase p85  $\alpha$  regulatory subunit 遺伝子 M326I 多型はインスリン分泌能に関与していることが考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

島尻佳典、三家登喜夫、上田量也、中川貴之、下村裕子、辰田仁美、南條輝志男：PI3-Kinase p85  $\alpha$  調節サブユニット遺伝子変異(M326I)保有者のインスリン分泌能の検討. PEPTIDE HORMONES IN PANCREAS 17: (in press), 1999

##### 2. 学会報告

- ・島尻佳典、三家登喜夫、上田量也、下村裕子、辰田仁美、中川貴之、南條輝志男：PI3-Kinase p85  $\alpha$  調節サブユニット遺伝子変異(M326I)保有者の臨床的検討. 第 35 回日本糖尿病学会近畿地方会、奈良、1998 年 11 月 28 日
- ・島尻佳典、三家登喜夫、上田量也、中

川貴之、南條輝志男：PI3-kinase p85  $\alpha$  調節サブユニット遺伝子変異(M326I)保有者のインスリン分泌能. 第 19 回膵ホルモン研究会、東京、1998 年 11 月 30 日

#### G. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案特許

なし

##### 3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業）  
分担研究報告書

糖尿病の発症ならびに合併症に関与する候補遺伝子の単離  
分担研究者：清野 進 千葉大学大学院医学研究科 分子機能制御学 教授

研究要旨：糖尿病の発症や合併症の進展には遺伝素因が関与している。本年度の研究では血管新生に極めて重要であると考えられる新規のヒトアンジオポエチン(Ang-3)のクローニングを行った。ヒト Ang-3 は 20p13 にマッピングされた。新たなアンジオポエチン遺伝子の単離は糖尿病性血管合併症や動脈硬化症の進展を解明する手がかりとなる可能性がある。

〔1〕糖尿病性血管合併症の候補遺伝子の単離

A. 研究目的

糖尿病の発症と合併症の進展には遺伝素因が関与する。我々は、1) 既知の cDNA や遺伝子を用いたホモロジースクローニング法、2) 発現クローニング法、3) 蛋白質-蛋白質相互作用を利用した yeast two-hybrid ライブラリースクリーニング、4) mRNA differential display 法を用い、候補遺伝子の単離を試みている。糖尿病血管合併症や動脈硬化症における血管新生の分子機構はまだ不明な点が多い。平成 10 年度では特に血管新生に関与する新たな血管新生因子（アンジオポエチン-3）の遺伝子をクローニングした。

B. 研究方法

近年単離された血管新生因子であるアンジオポエチンのアミノ酸配列をデータベースサーチし、アンジオポエチン-1(Ang-1)やアンジオポエチン-2(Ang-2)に類似配列をもつゲノムクローンが得られた。その配列をもとにプローブを作成し、ヒト大動脈 cDNA ライブラリーをスクリーニングした。組織発現はノザン法を用いて解析した。遺

伝子座位の決定には、Radiation Hybrid(RH)法を用いた。

C. 結果

データベースサーチの検索により、Ang-1 や Ang-2 に 8 箇所類似配列をもつゲノムクローンが得られた。この類似配列をもとに、ヒト大動脈 cDNA ライブラリーをスクリーニングし、1957bp からなる全長 cDNA を単離し、塩基配列を決定した。新たに同定された Ang-3 は 503 アミノ酸からなり、Ang-1 および Ang-2 とそれぞれ 45.1%、44.7%の相同性を認め、アンジオポエチンに特徴的なドメインは保存されていた。

ノザン法による解析では、mRNA は 5.6kb、4.0kb の大きさで、Ang-1 や Ang-2 とは異なる組織分布をしていることが明らかとなった。さらに、ヒト臍帯静脈内皮細胞では、VEGF (Vascular endothelial growth factor) による刺激で Ang-3 の発現がやや減少していた。

Ang-3 は RH 法により、第 20 染色体短腕(20p13)にマッピングされた。

#### D. 考察

アンギオポエチン (Ang) は血管内皮細胞特異的因子の新たなファミリーを構成する。Ang-1 は免疫グロブリン及び EGF にホモロジーを有し、チロシンキナーゼのメンバーである Tie-2 のリガンドとして同定された。その後、Ang-1 のイソフォームとしてクローニングされた Ang-2 も Tie2 と結合する。現在のところ Tie1 に対するリガンドは同定されていない。本研究で同定された Ang3 が Tie2 のリガンドであるかどうかは現在のところ明らかでない。Ang-1 のノックアウトマウスや Ang-2 を過剰発現したトランスジェニックマウスの研究より、アンギオポエチンは正常な血管新生に重要な役割を果たすことは明らかであるが、しかし病態との関係は殆ど不明である。血管合併症や動脈硬化症が認められる糖尿病では、正常な血管新生が障害されている可能性が考えられる。新たなアンギオポエチンの遺伝子の単離は正常ならびに糖尿病を初め、種々の病態が認められる血管新生のメカニズムを解明する上で有用であると考えられる。

#### E. 結論

新たな血管新生因子の単離に成功したことにより、この遺伝子を糖尿病血管合併症に関与する可能性がある候補遺伝子として、さらに検討を加える予定である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nishimura, M., Miki, T., Yashima, R., Yokoi, N., Sato, Y. and Seino, S. Angiopoietin-3, a novel member of the

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業）  
分担研究報告書

糖尿病状態における $\alpha$ -グルコシダーゼの活性、発現の検討とその遺伝子変異の検索  
分担研究者 清野 裕 京都大学大学院医学研究科臨床生体統御医学講座教授

研究要旨：インスリン非依存型糖尿病(NIDDM)での糖質の消化に注目し、モデルラット(OLETF)を用いて、糖質の最終消化を演じる $\alpha$ -グルコシダーゼの活性および発現を検討した。さらに糖尿病患者 40 名について $\alpha$ -グルコシダーゼの主要なコンポーネントであるスクラーゼ・イソマルターゼ(SI)遺伝子の変異の有無を検討した。 $\alpha$ -グルコシダーゼの活性は、OLETF48週齢で有意に高値を示した。また SI は、タンパク、mRNA とも OLETF の 48 週齢で対照に比し有意に高発現した。PCR-SSCP による SI 遺伝子変異の検討にて NIDDM 患者 40 名中 9 名に異なった泳動像がみられ、直接シーケンス法にて転写開始部より 59 塩基上流の G が A に置換したアレルを有するヘテロ接合体であることが明らかになった。

#### A.研究目的

食餌より摂取された糖質は小腸に存在する $\alpha$ -グルコシダーゼによって最終消化されたのち吸収される。そこでインスリン非依存型糖尿病(NIDDM)での糖質の消化に注目し、モデルとして OLETF ラットを用いて、糖質の最終消化を演じる $\alpha$ -グルコシダーゼの活性および発現を検討した。さらに NIDDM 患者 40 名について $\alpha$ -グルコシダーゼの主要なコンポーネントのひとつであるスクラーゼ・イソマルターゼ(SI)遺伝子の変異の有無を検討した。

#### B.研究方法

10、20、30、40、48 週齢の OLETF 雄ラット(OLETF)とその対照である LETO 雄ラット(LETO)を用い、各週齢における随時血糖、インスリン値の測定を行った。その各週齢について小腸刷子縁における $\alpha$ -グルコシダーゼ活性を測定した。さらに SI についてウェスタンブロット、ノーザンブロットを行い、OLETF、LETO ラットの SI の発現について検討した。また、NIDDM 患者 40 名について SI 遺伝子の 5' 上流域

およびエクソン 1 の変異を PCR-SSCP 法を用いて検討した。

#### C.研究結果

OLETF は LETO に比し有意な肥満と高血糖を示した。OLETF、LETO 各週齢における血中インスリンは有意な差は認められなかった。各週齢での $\alpha$ -グルコシダーゼの活性は、LETO では週齢経過に関係なくほぼ一定の活性を示した。一方、OLETF では 10、20、30、40 週齢では LETO 群とは有意な差は認められなかったが、48 週齢で高値を示した。また SI は、そのタンパクおよび mRNA とも OLETF48 週齢で有意に高発現した。PCR-SSCP による検討にて 9 名に異なった泳動像がみられ、直接シーケンス法にて転写開始部より 59 塩基上流の G が A に置換したアレルを有するヘテロ接合体であることが明らかになった。

#### D.考察

今回の検討で、すでに肥満、糖尿病状態である 40 週齢以前の OLETF で、小腸における $\alpha$ -グルコシダーゼ活性の亢進は認



められなかった。しかしながら体重が減少しさらに著しい高血糖をきたす 48 週齢 OLETF で  $\alpha$ -グルコシダーゼ活性および SI のタンパク、mRNA 発現の亢進が認められた。このことから、48 週齢 OLETF ではインスリンの作用不全やそれにともなうより長期の高血糖の持続が  $\alpha$ -グルコシダーゼ発現機構に寄与していることが示唆された。また NIDDM 患者において新たな SI 遺伝子変異を見出した、このアレル頻度は 0.11 であった、この変異は転写制御に重要な部位である TATA box 近傍 (約 20 塩基上流) であり、SI の発現制御と関連する可能性が考えられた。

#### E. 結論

OLETF における  $\alpha$ -グルコシダーゼの発現制御は、インスリンの作用の標的臓器である肝や筋などとは異なることが推察され、 $\alpha$ -グルコシダーゼの発現制御機構を分子レベルで解明することが必要である。また今回発見された SI 遺伝子異常と糖尿病との関連やその病的意義については現時点では不明であり、今後より多くの症例について解析が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Disordered expression of the sucrase-isomaltase complex in the small intestine in otsuka long-evans tokushima fatty rats, a model of non-insulin-dependent diabetes mellitus with insulin resistance., Adachi T, Seino Y et. al., Biochim Biophys Acta 1999 Jan 4;1426(1): 126-32

##### 2. 学会発表

なし

#### G. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業）  
分担研究報告書

「後縦靭帯骨化症におけるインスリン抵抗性糖尿病」  
分担研究者 武田 純 群馬大学生体調節研究所  
調節機構部門遺伝情報分野

研究要旨：脊椎後縦靭帯骨化症（OPLL）はその名前が示すように、後縦靭帯の異所性骨化により脊髄を圧迫し、さまざまな神経症状をきたす疾患である。OPLL は頻度の高い疾患であり、50歳以上の2-4%が罹患している。やや古い疫学調査の結果であるが、OPLL に糖尿病が合併することが示されている。逆に糖尿病患者で OPLL の有無を調べたところ、かなり高頻度に OPLL を合併していた。興味深いことに OPLL を合併する糖尿病患者は血中インスリン値が高い傾向にあった。すなわちインスリン抵抗性糖尿病に OPLL が合併している可能性が考えられた。日本人集団での糖尿病は欧米と比較するとインスリン分泌不全が多いとされている、実際にはインスリン抵抗性を捉えることが困難なことがその背景としてあり、検出できていない可能性も否定できない。OPLL に合併する糖尿病はインスリン抵抗性が多いことより、インスリン抵抗性糖尿病の遺伝素因など解析するに有用な分画を提供できることが期待できるだろう。

#### A. 研究目的

本研究の目的はインスリン抵抗性糖尿病の遺伝素因の解明である。しかしながらインスリン分泌不全が主体である日本人集団では、インスリン抵抗性の患者を集めることは容易ではない。そこで、視点を変えて検討してみた。後縦靭帯骨化症（OPLL）は靭帯骨化により頸椎症をきたす、整形外科領域で最も頻度の高い疾患のひとつである。糖尿病患者で OPLL を合併している例が多く、それらは高インスリン血症である。特に肥満傾向の女性で顕著であった。糖尿病と OPLL を合併する分画に、インスリン抵抗性糖尿病のサンプルプールがあると予想され、詳細な検討を加えた。

比較的高齢で発症する OPLL であるが、遺伝素因が強いことが知られている。兄弟で発症する危険率( $\lambda_s$ )は1.0と成人発症の common disease としては非常に高い。すでに罹患同胞対連鎖解析により、OPLL の原因遺伝子座を第6番染色体 HLA 領域に限

定できており、候補遺伝子としてコラーゲン 11A2 を同定できている。詳細な遺伝子変異解析の結果、コラーゲン 11A2 のいくつかの変異で、患者・対照関連解析で有意な結果を認めている。すなわちコラーゲン 11A2 の遺伝子変異と OPLL 発症が関連することを示すものである。しかしながら男女に分けて解析すると OPLL へのコラーゲン 11A2 の関与は男性のみで検出でき、女性においては異なる要因が考えられた。

#### B. 研究方法

OPLL の患者150人について、糖尿病の有無を単純な空腹時血糖測定によりおこなった。かつ糖尿病患者511人について単純X線検査により OPLL の有無を調べた。OPLL 患者および対照において空腹時血中インスリンおよびレプチンを測定した。

OPLL 患者165人（男83人、女78人）および non-OPLL 対照者162人（男78人、女85人）から DNA を抽出し、

コラーゲン 11A2 遺伝子の関与についてハプロタイプを含めた関連解析をおこなった。コラーゲン 11A2 のプロモーター変異、エクソン 6 変異、イントロン 6 変異、エクソン 4 3 変異、エクソン 4 6 変異について、それぞれ遺伝子タイピングを MS-PCR に従いおこなった。それぞれの変異について患者・対照で頻度を比較し、カイ検定による統計処理をおこなった。また 5 ケ所の変異について、maximum likelihood によりハプロタイプを構築し、ハプロタイプ頻度を患者・対照で比較した。

### C. 研究結果

#### OPLL とインスリン抵抗性糖尿病

OPLL 患者 1 5 0 人調べたところ 9.7% が糖尿病を合併していた。一般の糖尿病の頻度とさほど変わらないので、これまで言われてきた程に、糖尿病を合併する率が高いということではなさそうである。一方、糖尿病患者 5 1 1 人で OPLL の有無を調べたところ、15.9% と非常に高率に OPLL が存在していた。糖尿病患者は一般のほぼ 5 倍 OPLL に罹患する確立が高いといえるだろう。OPLL で見い出された糖尿病患者は高インスリン傾向を示し、インスリン抵抗性糖尿病が疑われた。血中レプチンを測定したところ、女性においてインスリン値とレプチン値に正の相関があった。対照や男性では負の相関を示しているので、女性ではなにか異なる発症機構が働き糖尿病と OPLL を合併していることが推測された。

#### OPLL の遺伝解析

OPLL の候補遺伝子として、すでにコラーゲン 11A2 の遺伝的関与を明らかにしている。これまで 2 0 の遺伝子変異をコラ

ーゲン 11A2 遺伝子で同定しており、それぞれの変異について患者・対照での頻度の比較をおこない疾患原因となっているかの検討をおこなった。結果、5 ケ所の変異で有意な差を認め、そのなかでもイントロン 6 の変異で最も強い有意差を得ることができている。有意な差を認めた 5 ケ所の変異を組み合わせ、ハプロタイプ解析をおこなった。ハプロタイプ解析の検定力は高いこともあり、統計上非常に高い有意差を得ることができた。これらの結果より、コラーゲン 11A2 が OPLL に発症に関与する遺伝子のひとつであると結論づけられた。OPLL の頻度は男女差があること、女性には BMI の高い患者が多いことなど、男女で異なる発症機構が存在していることが示唆されている。男女にわけてハプロタイプ解析をおこなったところ、男性ではより強い関連を認めたものの、女性においてはまったく有意差がなかった。この結果より、OPLL の遺伝要因としてコラーゲン 11A2 遺伝子の関与があるものの、それは男性のみに存在しており、女性では関与していないと結論づけることができる。糖尿病との合併は肥満傾向の女性で多いことと関連することかもしれない。

### D. 考察

#### インスリンと骨形成

後縦靭帯骨化症は靭帯に原因不明の異所性骨化をきたす疾患である。これまでの解析により、OPLL の成因に強い遺伝要因が存在し、そのひとつとしてコラーゲン 11A2 遺伝子の関与が考えられた。しかしながら女性ではコラーゲン 11A2 の関与が全くないなど、複雑な要因を念頭におく必

要があるだろう。すなわち遺伝要因のみでなく環境要因なども疾患形成に関与しており、OPLL でみられる高インスリン血症などの関与もあると考えられる。インスリン作用のひとつとして骨芽細胞の活性化があり、骨形成を促進することが知られている。実際に高インスリン血症の患者では hyperostosis 状態にあり、骨粗鬆症が少なく、インスリン分泌が減少することによって骨粗鬆症がおこることは特記すべきであろう。高インスリンによる骨化促進作用により、OPLL が発症することも予想されることである。

#### インスリン抵抗性糖尿病

日本人での糖尿病はインスリン分泌不全を特徴とするといわれている。このことはインスリン分泌不全が主体となっている欧米と対照的である。しかしながらアメリカに移住した日系人などの解析によると、日本人にもインスリン抵抗性がかなりの頻度で存在することが予想される。インスリン抵抗性の原因の遺伝要因が存在すると考えられる。しかしながら現実問題として、インスリン抵抗性を病態として捉えることは困難である。興味深いことに OPLL に合併する糖尿病はかなりの頻度で高インスリン血症を示すので、インスリン抵抗性糖尿病がそこに濃縮されていると予想できる。すなわち OPLL に合併した糖尿病患者で遺伝解析をおこない、インスリン抵抗性に関連した遺伝子を特定することが可能となるかも知れない。

#### E. 結論

後縦靭帯骨化症の解析を通じ、インスリン抵抗性糖尿病の分画を得ることができ

る。純粋な形ではないだろうが、少なくとも濃縮されていると予想される。これらの患者を用い、遺伝解析をおこなうことにより、インスリン抵抗性に関与する原因遺伝子を同定することが可能となるであろう。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

S. Maeda, et al.

Gender-specific haplotype association of collagen 11A2 in ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine.

(manuscript in preparation).

##### 2. 学会発表

前田真吾、猪狩勝則、古賀公明、井ノ上逸朗、武田 純。「脊椎後縦靭帯骨化症の遺伝解析—コラーゲン 11A2 の変異とハプロタイプの男女差」第 43 回日本人類遺伝学会, 1998.

#### G. 知的所有権の取得状況

特記すべきもの無し