

200707025A

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業：  
ヒトゲノムテーラーメイド研究

生活習慣と遺伝子型による2型糖尿病発症  
リスク予測法の開発

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 原 一雄

平成20（2008）年 4月

## 目 次

I. 総括研究報告		
生活習慣と遺伝子型による2型糖尿病発症リスク予測法の開発		
原 一雄	-----	3
II. 分担研究報告		
1. 新規2型糖尿病感受性遺伝子の機能解明		
門脇 孝	-----	8
2. インスリン抵抗性に関与する糖尿病感受性遺伝子の同定		
山内 敏正	-----	11
3. インスリン分泌不全に関与する糖尿病感受性遺伝子の同定		
戸辺 一之	-----	14
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	17

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

総括研究報告書

生活習慣と遺伝子型による2型糖尿病発症リスク予測法の開発

主任研究者 原 一雄 東京大学医学部附属病院 講師

研究要旨：2型糖尿病は心筋梗塞・脳卒中発症のリスク増大によって国民の健康をおびやかしている。本研究では、先に明らかにした日本人2型糖尿病感受性遺伝子座について一塩基多型による相関解析を行い、2型糖尿病遺伝素因の全貌を解明する。更に2型糖尿病の易罹患性・分子病態の新規診断法を開発し実際の臨床現場に応用・実用化する。本研究の成果によって生活習慣病の効果的な一次予防と、最適な生活習慣病治療法の選択が可能となる。日本人の糖尿病感受性遺伝子座として同定した9ヶ所の染色体領域のうち本年度は、他のグループが日本人を対象として行った罹患同胞対法による解析でも2型糖尿病との連鎖を一致して認められた染色体11番（11p13-p12）の領域について網羅的相関解析を行い新規2型糖尿病感受性遺伝子Xを同定した。本年度は更に本遺伝子の欠損マウスの機能解析を行い、遺伝子Xがインスリン分泌に関わっていること、本遺伝子の多型によって発現レベルが低下することによって2型糖尿病の発症リスクが亢進していることを明らかにした（未発表）。また欧米における全ゲノム相関解析によって次々と新規2型糖尿病感受性遺伝子が同定されたとの報告がなされたが、我々もその全てについて日本人における意義を検討し、報告した。

分担研究者

門脇 孝 東京大学医学部附属病院  
教授

山内 敏正 東京大学医学部附属病院  
客員准教授

戸辺 一之 富山大学附属病院  
教授

次予防を効率的に行うためのハイリスク者スクリーニング法の開発、(2)個人個人の病態に合わせた最適な治療法の選択のために生活習慣病の分子病態を正確に診断する方法の開発を行い、糖尿病患者増大の抑制と糖尿病治療効率の向上に寄与し、よって国民の健康増進に貢献することを目的とする。

#### A. 研究目的

わが国における生活習慣病は糖尿病に限っても罹患者数が推定約740万人と極めて多く、その数は今後も増加すると予測されている。糖尿病は細小血管症によるQOL(生活の質)の低下と動脈硬化促進による心筋梗塞・脳卒中発症のリスク増大を介して健康寿命を短縮している最大の問題の一つである。そこで本研究では、日本人の2型糖尿病遺伝素因を明らかにした上で、(1)2型糖尿病の

#### B. 研究方法

全ゲノム解析によってマップした2型糖尿病感受性遺伝子座のうち、染色体1番、3番、20番以外の6箇所の染色体領域に含まれるSNPのうち、国際HAPMAP projectによるハプロタイプブロック・ハプロタイプ標識SNPの情報によって疾患感受性遺伝子を効率よく同定することができるSNPを選択する。3つの独立した糖尿病・糖代謝正

常者の DNA パネル(既に文書による同意を得て DNA を抽出済み)で一貫して 2 型糖尿病と相関を示す SNP を同定し、日本人 2 型糖尿病感受性遺伝子としての意義を検討する。

また、地域コホート(新潟県新発田市:対象者約 1000 人)について、食生活(122 品目の食品について半定量的に摂取量を管理栄養士によって聴取)・身体活動など生活習慣に関連する情報を網羅的に聴取済みであるが、本研究における解析のためにデータベース化する。地域コホート対象者について、既に 2 型糖尿病感受性遺伝子多型として報告しているアディポネクチン遺伝子、AMP キナーゼ遺伝子、HNF4 $\alpha$  遺伝子、PPAR $\gamma$  遺伝子の SNP についてタイピングを行う。更に生活習慣の情報と統合し、ロジスティック回帰分析によって、糖尿病を発症させやすくしている環境因子と遺伝素因の組み合わせを同定し、生活習慣についての簡単なアンケートと頬粘膜採取→ゲノム DNA 抽出→糖尿病感受性 SNP のタイピングによる無侵襲・簡便・正確な糖尿病発症リスク予測法を開発する。開発したリスク予測法について、感度・特異度・陽性的中率などの指標を、2 型糖尿病環境因子・病態データベース(経時的)を利用して算出し、実際に臨床応用が可能であるかについて確認を行なう。

(倫理面への配慮)「ヒトゲノム・遺伝子解析研究のための倫理指針」「疫学研究に関する倫理指針」「臨床研究に関する倫理指針」を遵守し、書面による本研究への同意が得られた者のみを対象として研究を遂行する。更に指針の策定を受けて本学に設置された倫理審査委員会の承認を得て(承認番号 421)研究計

画書に従い研究を実施する。具体的な配慮の項目としては以下の通り。①研究で使用される試料に関して:既に提供されている DNA などの試料は、遺伝子解析研究での利用を明示した上で同意が文書で得られているもののみを研究対象としており問題はない。本研究で新規に提供される試料は、全て指針に従って採取される。②個人情報の保護に関して:本研究で提供される試料はすべて、個人識別情報(カルテ番号、名前、住所など)を管理する個人識別情報管理者により匿名化される。連結可能のための対応表は、個人識別情報管理者のもとで厳重に管理され、個人の情報を処理するコンピューターは他の一切のコンピューターと切り離され、個人識別情報管理者によって保管される。更に、個人識別情報管理者以外は、連結可能匿名化番号と個人識別情報との連結が不可能にする。東大病院では主任研究者の原一雄により個人情報匿名化システムが確立している(*J.Hum.Genet.*48:327-330, 2003)。③予測される試料提供者に対する危険や不利益に関して:試料提供は主として前腕の静脈からの採血によっており身体的危険はほとんどないと言ってよい。また提供された試料は解析に先立って速やかに匿名化されるので、試料等提供者の尊厳と人権は十分に保護されていると考えられる。また、本研究は多因子病としての 2 型糖尿病の感受性遺伝子を対象としており、単一遺伝子病の様に必ずしも遺伝カウンセリングが必要となるケースは少ないと思われるが、予想外の遺伝病の存在が明らかになった場合の予測される病態や予後、治療方針などにつき、結果の開示に伴い本人および家族に医学的あるいは心理的問

題を生じる可能性があり、遺伝カウンセリングなどの体制を準備している。

### C. 研究結果

#### (1)染色体11番における2型糖尿病感受性遺伝子の同定：

罹患者対による全ゲノム解析で同定した9箇所の日本人2型糖尿病感受性遺伝子座のうち染色体11番(11p13-p12)の領域は、日本人を対象とした他のグループによる全ゲノム解析によっても一致して糖尿病との連鎖が報告され(J Hum Genet 2004 49:629-34)日本人に特異的な2型糖尿病感受性遺伝子座として極めて有望な領域である。そこで本領域について網羅的なSNPによる相関解析を行ったところ、2型糖尿病と一貫して相関する遺伝子多型を同定した。更にヒト脂肪組織を利用した発現解析を行ったところ、本遺伝子の糖尿病リスクを上昇させるアリルの保持者は非保持者に比べて本遺伝子の発現が有意に低下していることが判明した。本遺伝子多型によって発現レベルが遺伝的に低下していることが糖尿病発症リスクを上昇させていることは(3)に示した遺伝子欠損マウスの解析結果と合致している。

(2) 染色体15番における網羅的相関解析：染色体15番の領域についても有力な候補遺伝子が多かったため HapMap プロジェクトなどの情報から本領域のSNPの選択を行い網羅的な相関解析を行い、複数のSNPが2型糖尿病と相関する領域を認めた。今後は更にサンプルを増やした解析を行い感受性遺伝子であるかの検討を行って行く予定である。

(3)新規2型糖尿病感受性遺伝子の機能解析：(1)で示した新規2型糖尿病感受

性遺伝子の生体内での機能については殆ど明らかにされていなかったため、統計学的には本遺伝子が2型糖尿病感受性遺伝子であると考えられたものの、生物学的にみても本遺伝子が糖脂質代謝に関与していることの確認が必要であった。そこで本遺伝子の欠損マウスを作成して本遺伝子の機能について個体レベルで解析を行った。本遺伝子欠損マウスは高脂肪食下において OGTT (Oral Glucose Tolerance Test:経口ブドウ糖負荷試験)におけるインスリン分泌能が野生型に比べて低下しており、本遺伝子がインスリン分泌低下に関与する2型糖尿病感受性遺伝子であることが示唆された。(4)欧米における2型糖尿病感受性遺伝子の日本人における役割の検討：た、最近アイスランドとデンマーク、米国の研究グループから TCF7L2 (Transcription Factor 7 - Like 2)遺伝子の領域に2型糖尿病と有意に相関する遺伝子多型を複数認めたという報告がなされた(Nature Genet 38:320-323, 2006)。TCF7L2 遺伝子多型の頻度が高いことから(25%~)2型糖尿病の主要な感受性遺伝子であると推測された。本遺伝子はインスリン分泌に重要な役割を担っている GLP (Glucagon like peptide)-1 遺伝子の発現を調節する転写因子であるため、TCF7L2 遺伝子は機能的にみてもインスリン分泌低下に関与する糖尿病感受性遺伝子の有望な候補と考えられた。昨年欧米の有力なゲノムの研究室から有力な学会誌に相次いでそこで日本人における TCF7L2 遺伝子の役割を解明するために、日本人のサンプルについて相関解析を行ったところ、TCF7L2 遺伝子多型 rs7903146 が有意に2型糖尿病と相関し(p=0.0018)、

リスクアリル保持者は糖尿病のリスクが1.69倍上昇していた。さらに対象者をBMI 25未満の非肥満者に限定するとそのオッズ比は2.24とさらに上昇することが明らかになり、インスリン抵抗性というよりは、痩せ型でインスリン分泌不全を来たすタイプの2型糖尿病を引き起こしやすくしていることが推測された(*Diabetologia* 50:747-751, 2007)。しかしながら、リスクを上昇させるアリの頻度は高々5%であることから欧米人に比較して、2型糖尿病の遺伝素因全体に占める割合は高くないことが推定された。TCF7L2 遺伝子の同定に続いて、続々と新規2型糖尿病感受性遺伝子が同定された。その全てについて日本人サンプルを利用した相関解析を行い、HHEX 遺伝子は日本人においても2型糖尿病感受性遺伝子であることを報告した(*Diabetologia* 50:2461-6, 2007)

#### D. 考察

TCF7L2 遺伝子はインスリン分泌不全に関与する普遍的な2型糖尿病感受性遺伝子と考えられる。但し、TCF7L2 遺伝子に関しては欧米人では糖尿病のリスクを上昇させる遺伝子型の割合が多く遺伝素因全体に占める割合も大きいのに比べて、日本人では頻度が低いために遺伝素因全体に占める割合はそれほど大きくないと考えられた。日本人2型糖尿病感受性遺伝子座の詳細なSNP解析によって2型糖尿病感受性遺伝子であることを見出したX遺伝子は膵β細胞のグルコース依存性インスリン分泌機能低下に関わる糖尿病感受性遺伝子であることが明らかになった。

#### E. 結論

我々の明らかにした日本人2型糖尿病感受性領域のなかで染色体11番の領域について、機能が未知の2型糖尿病感受性遺伝子を同定した

(2) 欧米で報告された2型糖尿病感受性遺伝子TCF7L2、HHEX 遺伝子は日本人においても糖尿病感受性に影響を与えているものの欧米人と比較すると大きくないと考えられた。

(3) 今後はこれまでに明らかにした2型糖尿病感受性遺伝子多型を統合して解析し、糖尿病発症に関与している環境・遺伝相互作用を解明していく

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(1) Horikoshi M, Hara K, Ito C, Shojima N, Nagai R, Ueki K, Froguel P, Kadowaki T. Variations in the HHEX gene are associated with increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetologia*. 50(12):2461-6, 2007

(2) Ochi M, Osawa H, Hirota Y, Hara K, Tabara Y, Tokuyama Y, Shimizu I, Kanatsuka A, Fujii Y, Ohashi J, Miki T, Nakamura N, Kadowaki T, Itakura M, Kasuga M, Makino H. Frequency of the G/G genotype of resistin single nucleotide polymorphism at -420 appears to be increased in younger-onset type 2 diabetes. *Diabetes* 56(11):2834-8, 2007.

(3) Horikoshi M, Hara K, Ito C, Nagai R, Froguel P, Kadowaki T. A genetic variation of the transcription factor

7-like 2 gene is associated with risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetologia* 50(4):747-51, 2007

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
分担研究報告書  
新規2型糖尿病感受性遺伝子の機能解明

分担研究者 門脇 孝 東京大学医学部附属病院 教授

研究要旨：2型糖尿病は心筋梗塞・脳卒中発症のリスク増大によって国民の健康をおびやかしている。本研究では、先に明らかにした日本人2型糖尿病感受性遺伝子座について一塩基多型による相関解析を行い、2型糖尿病遺伝素因の全貌を解明する。更に2型糖尿病の易罹患性・分子病態の新規診断法を開発し実際の臨床現場に応用・実用化する。本研究の成果によって生活習慣病の効果的な一次予防と、最適な生活習慣病治療法の選択が可能となる。本年度は、他のグループが日本人を対象として行った罹患同胞対法による解析でも2型糖尿病との連鎖を一致して認められた染色体11番（11p13-p12）の領域について相関解析によって同定した新規2型糖尿病感受性遺伝子Xの欠損マウスについて個体レベルで機能解析を行い、遺伝子Xがインスリン分泌に関わっていること、本遺伝子の多型によって発現レベルが低下することによって2型糖尿病の発症リスクが亢進していることを明らかにした（未発表）。

#### A. 研究目的

わが国における生活習慣病は糖尿病に限っても罹患者数が推定約740万人と極めて多く、その数は今後も増加すると予測されている。糖尿病は細小血管症によるQOL(生活の質)の低下と動脈硬化促進による心筋梗塞・脳卒中発症のリスク増大を介して健康寿命を短縮している最大の問題の一つである。本研究では、日本人の2型糖尿病遺伝素因を明らかにした上で、(1)2型糖尿病の1次予防を効率的に行うためのハイリスク者スクリーニング法の開発、(2)個々人の病態に合わせた最適な治療法の選択のために生活習慣病の分子病態を正確に診断する方法の開発を行い、糖尿病罹患者増大の抑制と糖尿病治療効率の向上に寄与し、よって国民の健康増進に貢献することを目的とする。本分担研究では

本研究で新たに日本人2型糖尿病感受性遺伝子として同定した遺伝子Xについて個体レベルでの機能解析を行い、日本人2型糖尿病感受性に与える分子メカニズムを明らかにする。

#### B. 研究方法

新規2型糖尿病感受性遺伝子Xの生体内での機能については殆ど明らかにされていなかったため、統計学的には本遺伝子が2型糖尿病感受性遺伝子であると考えられたものの、生物学的にみても本遺伝子が糖脂質代謝に関与していることの確認が必要であった。そこで本遺伝子の欠損マウスを作成して本遺伝子の機能について個体レベルで解析を行った。普通食または高脂肪食下において本遺伝子欠損マウス並びに野生型マウスを飼育し、体重・脂肪重量などの測定

を行った。また普通食または高脂肪食下において OGTT (Oral Glucose Tolerance Test:経口ブドウ糖負荷試験) を施行し、血糖値・血中インスリン値の測定を行った。また、単離膵島を利用して種々のブドウ糖濃度におけるインスリン分泌能を比較した。

(倫理面への配慮) 動物実験の取り扱いに関しては、「動物の保護及び管理に関する法律」(昭和 48 年法律第 105 号)、「実験動物の飼養及び保管に関する基準」(昭和 55 年給理府告示第 6 号)並びに「大学等における動物実験について」(平成 6 年 6 月 21 日文部省国際学術局長通知)を遵守し、実験動物の設備の適切な維持・管理に配慮し、適切な給餌、給水等の飼育管理を行う。また、実験操作により、動物に無用な苦痛を与えないよう配慮して研究を遂行する。

### C. 研究結果

罹患同胞対による全ゲノム解析で同定した 9 箇所日本人 2 型糖尿病感受性遺伝子座のうち染色体 11 番 (11p13-p12) の領域は、日本人を対象とした他のグループによる全ゲノム解析によっても一致して糖尿病との連鎖が報告され (J Hum Genet 2004 49:629-34) 日本人に特異的な 2 型糖尿病感受性遺伝子座として極めて有望な領域である。そこで本領域について網羅的な SNP による相関解析を行い新規の 2 型糖尿病感受性遺伝子 X を同定した。遺伝子 X の生体内での機能については殆ど明らかにされていなかったため、統計学的には本遺伝子が 2 型糖尿病感受性遺伝子であると考えられたものの、生物学的にみても本遺伝子が糖脂質代謝に関与していることの確認

が必要であった。そこで本遺伝子の欠損マウスを作成して本遺伝子の機能について個体レベルで解析を行った。本遺伝子欠損マウスは高脂肪食下において OGTT (Oral Glucose Tolerance Test:経口ブドウ糖負荷試験)におけるインスリン分泌能が野生型に比べて低下しており、本遺伝子がインスリン分泌低下に関与する 2 型糖尿病感受性遺伝子であることが示唆された (未発表)。

### D. 考察

日本人 2 型糖尿病感受性遺伝子座の詳細な SNP 解析によって 2 型糖尿病感受性遺伝子であることを見出した X 遺伝子は膵  $\beta$  細胞のグルコース依存性インスリン分泌機能低下に関わる糖尿病感受性遺伝子であることが明らかになった。

### E. 結論

我々の明らかにした日本人 2 型糖尿病感受性領域のなかで染色体 11 番の領域について、機能が未知の 2 型糖尿病感受性遺伝子を同定した。本遺伝子のリスクを上昇させるアリルの頻度は高いため、日本人でよく認められるインスリン分泌低下型の 2 型糖尿病の遺伝素因を良く説明できる可能性がある。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

(1) Horikoshi M, Hara K, Ito C, Shojima N, Nagai R, Ueki K, Froguel P, Kadowaki T. Variations in the HHEX gene are associated with increased risk

of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetologia*. 50(12):2461-6, 2007

(2) Ochi M, Osawa H, Hirota Y, Hara K, Tabara Y, Tokuyama Y, Shimizu I, Kanatsuka A, Fujii Y, Ohashi J, Miki T, Nakamura N, Kadowaki T, Itakura M, Kasuga M, Makino H. Frequency of the G/G genotype of resistin single nucleotide polymorphism at -420 appears to be increased in younger-onset type 2 diabetes. *Diabetes* 56(11):2834-8, 2007.

(3) Horikoshi M, Hara K, Ito C, Nagai R, Froguel P, Kadowaki T. A genetic variation of the transcription factor 7-like 2 gene is associated with risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetologia* 50(4):747-51, 2007

## 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許出願

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

分担研究報告書

インスリン抵抗性に關与する糖尿病感受性遺伝子の同定

分担研究者 山内 敏正 東京大学医学部附属病院 客員准教授

研究要旨：2型糖尿病は心筋梗塞・脳卒中発症のリスク増大によって国民の健康をおびやかしている。本研究では、先に明らかにした日本人2型糖尿病感受性遺伝子座について一塩基多型による相関解析を行い、2型糖尿病遺伝素因の全貌を解明する。更に2型糖尿病の易罹患性・分子病態の新規診断法を開発し実際の臨床現場に応用・実用化する。本研究の成果によって生活習慣病の効果的な一次予防と、最適な生活習慣病治療法の選択が可能となる。2型糖尿病はインスリン分泌不全に肥満などによるインスリン抵抗性が重なって発症する多因子病である。本分担研究では、インスリン抵抗性に關与する糖尿病感受性遺伝子の同定を目指す。

A. 研究目的

生活習慣病は糖尿病に限っても罹患率が約740万人と日本人における主要な疾患でありその数は今後も増加すると予測されている。糖尿病は細小血管症によるQOL(生活の質)の低下と動脈硬化促進による心筋梗塞・脳卒中発症のリスク増大を介して健康寿命を短縮している最大の問題の一つである。そこで本研究では、日本人の2型糖尿病遺伝素因を明らかにするとともに、(1)2型糖尿病の1次予防を効率的に行うためのハイリスク者スクリーニング法の開発、(2)個々人の病態に合わせた最適な治療法の選択のために生活習慣病の分子病態を正確に診断する方法の開発を行い、糖尿病罹患率増大の抑制と糖尿病治療効率の向上に寄与し、よって国民の健康増進に貢献することを目的とする。

B. 研究方法

(1) 2型糖尿病感受性遺伝子（多型）の同定:全ゲノム解析によってマップした2型糖尿病感受性遺伝子座のうち、

染色体1番、3番、20番以外の6箇所の染色体領域に含まれるSNPのうち、国際HAPMAP projectによるハプロタイプブロック・ハプロタイプ標識SNPの情報によって疾患感受性遺伝子を効率よく同定することができるSNPを選択する。3つの独立した糖尿病・糖代謝正常者のDNAパネル(既に文書による同意を得てDNAを抽出済み)で一貫して2型糖尿病と相関を示すSNPを同定し、日本人2型糖尿病感受性遺伝子としての意義を検討する。日本人2型糖尿病感受性遺伝子座に含まれる遺伝子のうちインスリン作用に關与している機能的にも候補となる遺伝子についてはより重点的・詳細にSNPのタイピングを行い、インスリン抵抗性に關与する糖尿病感受性遺伝子の同定を目指す。

(倫理面への配慮)「ヒトゲノム・遺伝子解析研究のための倫理指針」「疫学研究に関する倫理指針」「臨床研究に関する倫理指針」を遵守し、書面による本研究への同意が得られた者のみを対象として研究を遂行する。更に指針の策定を

受けて本学に設置された倫理審査委員会の承認を得て(承認番号 421)研究計画書に従い研究を実施する。具体的な配慮の項目としては以下の通り。①研究で使用される試料に関して:既に提供されているDNAなどの試料は、遺伝子解析研究での利用を明示した上で同意が文書で得られているもののみを研究対象としており問題はない。本研究で新規に提供される試料は、全て指針に従って採取される。②個人情報の保護に関して:本研究で提供される試料はすべて、個人識別情報(カルテ番号, 名前, 住所など)を管理する個人識別情報管理者により匿名化される。連結可能のための対応表は、個人識別情報管理者のもとで厳重に管理され、個人の情報を処理するコンピューターは他の一切のコンピューターと切り離され、個人識別情報管理者によって保管される。更に、個人識別情報管理者以外は、連結可能匿名化番号と個人識別情報との連結が不可能なようにする。東大病院では主任研究者の原一雄により個人情報匿名化システムが確立している(J.Hum.Genet.48:327-330, 2003)。③予測される試料提供者に対する危険や不利益に関して:試料提供は主として前腕の静脈からの採血によっており身体的危険はほとんどないといっている。また提供された試料は解析に先立って速やかに匿名化されるので、試料等提供者の尊厳と人権は十分に保護されていると考えられる。また、本研究は多因子病としての2型糖尿病の感受性遺伝子を対象としており、単一遺伝子病の様に必ずしも遺伝カウンセリングが必要となるケースは少ないと思われるが、予想外の遺伝病の存在が明らかになった場合の予測される病態や予後、治療

方針などにつき、結果の開示に伴い本人および家族に医学的あるいは心理的問題を生じる可能性があり、遺伝カウンセリングなどの体制を準備している。

### C. 研究結果

罹患同胞対による全ゲノム解析で同定した9箇所の日本人2型糖尿病感受性遺伝子座のうち染色体1番の領域についてはAMPキナーゼ $\alpha 2$ サブユニット(*PRKAA2*)のSNP(rs2051040)がインスリン抵抗性と有意に相関し、rs2051040を含むハプロタイプが有意に2型糖尿病と相関することからインスリン抵抗性を介する2型糖尿病感受性遺伝子であることを明らかにして報告した。本遺伝子は、骨格筋において筋収縮によって活性化される酵素で、運動によるインスリン抵抗性改善に関与していることが分かっている。最近、AMPキナーゼ $\alpha 2$ サブユニットはインスリン抵抗性改善物質アディポネクチンの作用を媒介する鍵分子であることが判明しており、本遺伝子多型によって骨格筋などでインスリン抵抗性が惹起され2型糖尿病になりやすくなっていることが示唆された。本遺伝子多型は2型糖尿病発症リスクの推定に役立つと考えられたため特許を出願している。また我々は、インスリン感受性物質アディポネクチンの2種類の特異的受容体(*ADIPOR1,R2*)を単離・同定することに成功している。アディポネクチン受容体はアディポネクチンの作用を特異的に媒介するため、インスリン抵抗性を来たす2型糖尿病感受性遺伝子の極めて良い候補である。そこで*ADIPOR1,R2*両遺伝子のSNPについてもインスリン抵抗性・2型糖尿病との相関について網

羅的に検討を行った。その結果両遺伝子とも日本人のインスリン抵抗性や糖尿病の主要な感受性遺伝子とは考えにくいという結果を得たので報告した。両遺伝子については、当該領域を直接シーケンス法で網羅的に多型の検索を行ったにも関わらずインスリン抵抗性や2型糖尿病との相関を認める多型を認めなかった。

### 3. その他

なし

#### D. 考察

AMP キナーゼ $\alpha$ 2サブユニット遺伝子のインスリン抵抗性を上昇させる多型の頻度は比較的高く、日本人の2型糖尿病遺伝素因に占める割合も比較的大きいと考えられる。アディポネクチン受容体は生体における機能は重要であるが遺伝素因としての関与は大きくない可能性が示唆された。

#### E. 結論

本研究によって、インスリン抵抗性に関与する2型糖尿病感受性遺伝子としてAMP キナーゼ $\alpha$ 2サブユニット遺伝子を同定した。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許出願

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

分担研究報告書

インスリン分泌不全に関与する糖尿病感受性遺伝子の同定

戸辺 一之

富山大学附属病院 教授

研究要旨：2型糖尿病は心筋梗塞・脳卒中発症のリスク増大によって国民の健康をおびやかしている。本研究では、先に明らかにした日本人2型糖尿病感受性遺伝子座について一塩基多型による相関解析を行い、2型糖尿病遺伝素因の全貌を解明する。更に2型糖尿病の易罹患性・分子病態の新規診断法を開発し実際の臨床現場に應用・実用化する。本研究の成果によって生活習慣病の効果的な一次予防と、最適な生活習慣病治療法の選択が可能となる。日本人の糖尿病感受性遺伝子座として同定した9ヶ所の染色体領域のうち染色体20番の領域はHNF4 $\alpha$ 遺伝子が日本人におけるインスリン分泌低下を来す2型糖尿病感受性遺伝子であることを明らかにしている。本年度は、他のグループが日本人を対象として行った罹患同胞対法による解析でも2型糖尿病との連鎖を一致して認められた染色体11番(11p13-p12)の領域について網羅的相関解析を行って新規2型糖尿病感受性遺伝子Xを同定した。本年度は更に本遺伝子の欠損マウスの機能解析を行い、遺伝子Xがインスリン分泌に関与していることを明らかにした(未発表)

A. 研究目的

わが国における生活習慣病は糖尿病に限っても罹患者数が推定約740万人と極めて多く、その数は今後も増加すると予測されている。糖尿病は細小血管症によるQOL(生活の質)の低下と動脈硬化促進による心筋梗塞・脳卒中発症のリスク増大を介して健康寿命を短縮している最大の問題の一つである。そこで本研究では、日本人の2型糖尿病遺伝素因を明らかにした上で、(1)2型糖尿病の1次予防を効率的に行うためのハイリスク者スクリーニング法の開発、(2)個々人の病態に合わせた最適な治療法の選択のために生活習慣病の分子病態を正確に診断する方法の開発を行い、糖尿病罹患者増大の抑制と糖尿病治療効率の向上に寄与し、よって国民の健康増進に貢献することを目的とする。本分担研究では日本人によく認められるイン

スリン分泌低下型の2型糖尿病感受性遺伝子の同定を目指す。

B. 研究方法

全ゲノム解析によってマップした2型糖尿病感受性遺伝子座のうち、染色体1番、3番、20番以外の6箇所の染色体領域に含まれるSNPのうち、国際HAPMAP projectによるハプロタイプブロック・ハプロタイプ標識SNPの情報によって疾患感受性遺伝子を効率よく同定することができるSNPを選択する。3つの独立した糖尿病・糖代謝正常者のDNAパネル(既に文書による同意を得てDNAを抽出済み)で一貫して2型糖尿病と相関を示すSNPを同定し、日本人2型糖尿病感受性遺伝子としての意義を検討する。

(倫理面への配慮)「ヒトゲノム・遺伝子解析研究のための倫理指針」「疫学研

究に関する倫理指針」「臨床研究に関する倫理指針」を遵守し、書面による本研究への同意が得られた者のみを対象として研究を遂行する。更に指針の策定を受けて本学に設置された倫理審査委員会の承認を得て(承認番号 421)研究計画書に従い研究を実施する。具体的な配慮の項目としては以下の通り。①研究で使用される試料に関して:既に提供されている DNA などの試料は、遺伝子解析研究での利用を明示した上で同意が文書で得られているもののみを研究対象としており問題はない。本研究で新規に提供される試料は、全て指針に従って採取される。②個人情報の保護に関して:本研究で提供される試料はすべて、個人識別情報(カルテ番号, 名前, 住所など)を管理する個人識別情報管理者により匿名化される。連結可能のための対応表は、個人識別情報管理者のもとで厳重に管理され、個人の情報を処理するコンピューターは他の一切のコンピューターと切り離され、個人識別情報管理者によって保管される。更に、個人識別情報管理者以外は、連結可能匿名化番号と個人識別情報との連結が不可能なようにする。東大病院では主任研究者の原一雄により個人情報匿名化システムが確立している(*J. Hum. Genet.* 48:327-330, 2003)。③予測される試料提供者に対する危険や不利益に関して:試料提供は主として前腕の静脈からの採血によっており身体的危険はほとんどないといっている。また提供された試料は解析に先立って速やかに匿名化されるので、試料等提供者の尊厳と人権は十分に保護されていると考えられる。また、本研究は多因子病としての2型糖尿病の感受性遺伝子を対象としており、単一遺伝子

病の様に必ずしも遺伝カウンセリングが必要となるケースは少ないと思われるが、予想外の遺伝病の存在が明らかになった場合の予測される病態や予後、治療方針などにつき、結果の開示に伴い本人および家族に医学的あるいは心理的問題を生じる可能性があり、遺伝カウンセリングなどの体制を準備している。

### C. 研究結果

罹患同胞対による全ゲノム解析で同定した9箇所の日本人2型糖尿病感受性遺伝子座のうち染色体11番(11p13-p12)の領域は、日本人を対象とした他のグループによる全ゲノム解析によっても一致して糖尿病との連鎖が報告され(*J Hum Genet* 2004 49:629-34)日本人に特異的な2型糖尿病感受性遺伝子座として極めて有望な領域である。そこで本領域について網羅的なSNPによる相関解析を行ったところ、2型糖尿病と一貫して相関する遺伝子多型を同定した。更にヒト脂肪組織を利用した発現解析を行ったところ、本遺伝子の糖尿病リスクを上昇させるアリルの保持者は非保持者に比べて本遺伝子の発現が有意に低下していることが判明した。本遺伝子多型によって発現レベルが遺伝的に低下していることが糖尿病発症リスクを上昇させていることは以下に示した遺伝子欠損マウスの解析結果と合致している。

最近アイスランドとデンマーク、米国の研究グループから TCF7L2 (Transcription Factor 7 - Like 2) 遺伝子の領域に 2 型糖尿病と有意に相関する遺伝子多型を複数認めたとという報告がなされた(*Nature Genet* 38:320-323, 2006)。TCF7L2 遺伝子多型の頻度が高

いことから(25%~) 2型糖尿病の主要な感受性遺伝子であると推測された。本遺伝子はインスリン分泌に重要な役割を担っている GLP (Glucagon like peptide)-1 遺伝子の発現を調節する転写因子であるため、TCF7L2 遺伝子は機能的にみてもインスリン分泌低下に関与する糖尿病感受性遺伝子の有望な候補と考えられた。昨年欧米の有力なゲノムの研究室から有力な学会誌に相次いでそこで日本人における TCF7L2 遺伝子の役割を解明するために、日本人のサンプルについて相関解析を行ったところ、TCF7L2 遺伝子多型 rs7903146 が有意に 2 型糖尿病と相関し(p=0.0018)、リスクアリル保持者は糖尿病のリスクが 1.69 倍上昇していた。さらに対象者を BMI 25 未満の非肥満者に限定するとそのオッズ比は 2.24 とさらに上昇することが明らかになり、インスリン抵抗性というよりは、痩せ型でインスリン分泌不全を来すタイプの 2 型糖尿病を引き起こしやすくしていることが推測された(*Diabetologia* 50:747-751, 2007)。しかしながら、リスクを上昇させるアリの頻度は高々5%であることから欧米人に比較して、2 型糖尿病の遺伝素因全体に占める割合は高くないことが推定された。TCF7L2 遺伝子の同定に続いて、続々と新規 2 型糖尿病感受性遺伝子が同定された。その全てについて日本人サンプルを利用した相関解析を行い、HHEX 遺伝子は日本人においても 2 型糖尿病感受性遺伝子であることを報告した(*Diabetologia* 50:2461-6, 2007)

#### D. 考察

TCF7L2 遺伝子はインスリン分泌不全に関与する普遍的な 2 型糖尿病感受性

遺伝子と考えられる。但し、TCF7L2 遺伝子に関しては欧米人では糖尿病のリスクを上昇させる遺伝子型の割合が多く遺伝素因全体に占める割合も大きいのに比べて、日本人では頻度が低いために遺伝素因全体に占める割合はそれほど大きくないと考えられた。日本人 2 型糖尿病感受性遺伝子座の詳細な SNP 解析によって 2 型糖尿病感受性遺伝子であることを見出した X 遺伝子は膵β細胞のグルコース依存性インスリン分泌機能低下に関わる糖尿病感受性遺伝子であることが明らかになった。

#### E. 結論

我々の明らかにした日本人 2 型糖尿病感受性領域のなかで染色体 11 番の領域について、インスリン分泌に関わると考えられる新規 2 型糖尿病感受性遺伝子を同定した。欧米で報告された 2 型糖尿病感受性遺伝子 TCF7L2、HHEX 遺伝子は日本人においても糖尿病感受性に影響を与えているものの欧米人と比較すると大きくないと考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許出願

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	ページ	出版年
Horikoshi M, Hara K, Ito C, Shojima N, Nagai R, Ueki K, Froguel P, Kadowaki T.	Variations in the HHEX gene are associated with increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population.	<b>Diabetologia</b>	50	2461-6	2007
Ochi M, Osawa H, Hirota Y, Hara K, Tabara Y, Tokuyama Y, Shimizu I, Kanatsuka A, Fujii Y, Ohashi J, Miki T, Nakamura N, Kadowaki T, Itakura M, Kasuga M, Makino H.	Frequency of the G/G genotype of resistin single nucleotide polymorphism at -420 appears to be increased in younger-onset type 2 diabetes.	<b>Diabetes</b>	56	2834-8	2007
Horikoshi M, Hara K, Ito C, Nagai R, Froguel P, Kadowaki T.	A genetic variation of the transcription factor 7-like 2 gene is associated with risk of type 2 diabetes in the Japanese population.	<b>Diabetologia</b>	50	747-51	2007