

200805031A

厚生労働科学研究費補助金  
厚生労働科学特別研究事業

# 臨床試料の多元的データ解析による 研究リソースの基盤情報に関する研究

(H20-特別-指定-026)

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 春日 雅人

平成21 (2009) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金  
厚生労働科学特別研究事業

臨床試料の多元的データ解析による  
研究リソースの基盤情報に関する研究

(H20-特別-指定-026)

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 春日 雅人

平成21 (2009) 年 3 月

## 目 次

### I. 総括研究報告

臨床試料の多角的データ解析による研究リソースの 基盤情報に関する研究	1
---------------------------------------	---

春日 雅人

(資料)

- ・ *KCNQ1* の同定に関する論文 (Yasuda K, et al, Nature Genet 2008)
- ・ 日本人 2 型糖尿病関連 11 遺伝子を用いた、糖尿病発症リスク評価に関する論文 (Miyake K, et al, J Hum Genet in press)

### II. 分担研究報告

遺伝子解析及びバイオマーカー測定	29
------------------	----

安田 和基

# I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

平成20年度総括研究報告書

**臨床試料の多元的データ解析による研究リソースの  
基盤情報に関する研究**

研究代表者 春日雅人 国立国際医療センター研究所・所長

**研究要旨：**

糖尿病患者は増加の一途をたどり、その合併症についても網膜症や腎症による失明、人工透析導入数は年々増加しており、また動脈硬化性疾患のハイリスクとなることから、国民の生命予後、QOLを大きく損ねるだけでなく、厚生行政上も大きな問題となっている。一方で昨今の網羅的研究などから、我々の *KCNQ1* の同定など、糖尿病と関連する可能性のある SNP やバイオマーカーの報告は見られるが、詳細な病態との関連や診断・治療への応用等、臨床的有用性の検証は、喫緊の課題であるにもかかわらずなされていない。しかもこれらを統合して検証する場合は整備されておらず、国際的に見ても日本として緊急に対応すべき課題である。

そこで本研究では、糖尿病の複雑な病態を解明し、個別化した医療の実現をはかるため、その研究基盤として、さまざまな生体情報とリンクさせた「糖尿病バイオリソース」の構築を試みた。その一環として、やはり喫緊の課題である、既報の病態関連因子の検討を通して、こうした多次元的な解析を指向した「糖尿病バイオリソース」の有用性及び具体的課題を検討した。これらにより、国が取り組んでいる「新健康フロンティア戦略」における、健康対策の柱の1つである「個人の特徴に応じた治療」の実現に向け、大きく推進させるための基盤の提供を目指した。

これまで同意を得て研究用に国立国際医療センターで収集された臨床試料について、従来の臨床情報に加えて、新たに計測した「生体情報」にて特徴づけ、臨床情報と統合し、日本人ヒト糖尿病の病態を多元的に解析するための研究リソース基盤を提供した。

具体的には、糖尿病・対照計 1500 名の DNA を対象に、我々が昨年 8 月に報告した *KCNQ1* を含めて、ここ 1 年半の間にゲノムワイド解析 (GWAS) などから同定された 11 SNP のタイピングを行った。また効果の強い rare variant



の同定も必須であるので、まず若年発症症例を選択して、MODY 遺伝子など重要遺伝子の全エクソンリシーケンシングを開始した。

また、同一人の治療前後のペア血清 160 例を対象に、既存のバイオマーカーのうち、代謝関連の生理活性物質やマーカーセット（インスリン、レプチンなど 14 種）、あるいは肥満や動脈硬化に関係するとされる炎症関連のサイトカインやマーカーセット（CRP、SAA など 9 種）などについて、ビーズテクノロジーを用いたマルチプレックスな同時測定を行った。測定は現在も進行中だが、すでにこれまで報告がない、あるいは一定した結論がない課題について、報告のない知見や興味深い症例の同定も行われ、本リソースの有用性がうかがわれた。同時に、臨床試料の問題点も明らかになりつつあり、今後のリソース構築に有用な情報が得られた。

将来個体レベルでの臨床表現型の解析がより充実し、こうした基盤情報をもとに整理された臨床試料について、さまざまな次元の「オミックス解析」が可能になれば、糖尿病代謝疾患の構造を統合的に解析し、日本人についての本格的な病態解明が可能になり、真に有用な基盤情報を提供できると期待される。

なお、すべての臨床サンプルは、倫理指針に準拠し、倫理審査委員会の承認と本人の同意を得て収集しており、個人情報の保護に十分留意して研究を進めた。

分担研究者：安田和基（研究所 代謝疾患研究部長）

研究協力者：松本道宏（研究所 臨床薬理研究部長）

#### A. 研究目的

糖尿病患者は増加の一途をたどり、平成 20 年末に発表された平成 19 年度の厚生労働省集計（国民栄養調査）では、糖尿病が強く疑われる人、否定できない人を合わせると 2210 万人であり、平成 14 年度に比べると 5 年間で 36% 増加している。これに伴い、合併症である網膜症による失明、腎症による人工透析導入数は年々増加しており、また動脈硬化性疾患の基礎疾患としても重要で、国民の生命予後、健康寿命、QOL を大きく損ねるだけでなく、厚生行政上も大きな問題となっている。

ヒト糖尿病の多彩な病態を解析し、画期的な診断・治療法を開発するためには、臨床の現場と密に連携した「バイオリソース」の構築が不可欠である。し

かも多角的な解析、具体的には、DNA（ゲノム、エピゲノム）、タンパク・代謝物やその修飾（プロテオーム、グライコーム、メタボロームほか）、さらに相互作用から環境因子も含めて、最終的に個体レベルの表現型（フェノーム、及び病態）に至るまで、疾患のさまざまな階層を解析できるような臨床試料リソースが必要である。

これらの各階層の網羅的なオミックス解析の重要性は、論をまたず、統合データにより新しい知見が得られると期待される。現在の技術の進歩により、将来は全ての次元でこうした「トップダウン型」データが出そろうと期待される。

しかし一方、既に病態への関与が示唆された SNP や生理活性物質、マーカーなどの「生体情報」について、収集した試料を測定（検査、タイピング）する「ボトムアップ型」の情報収集も不可欠である。例えば、特に遺伝因子については、ゲノムワイド相関解析（GWAS）により、日本人についての我々の昨年8月の報告（資料1：Yasuda K et al Nature Genetics 2008）を含め、ここ1年半ほどで約20近くが確立され、ようやくタイピングするべき遺伝因子が出そろいつつあり、それを「世界標準」として全てが議論されはじめている時期である（図1）。同時に **rare variant** の同定も急務で、諸外国では既に次世代シーケンサーをここに投入して研究が進められ始めているほどである。

したがって、収集したリソースの価値を確定し、その特徴を把握し分類しておくためには、できるだけ早急にこうした SNP のタイピングや遺伝子スクリーニング、バイオマーカーの測定を行わなければならない。また GWAS でも明らかになってきたように、糖尿病の病態や成因には、人種差が存在し、多次元的な解析も日本人についての独自データが必要である。

また、平成19年4月に取りまとめられた「新健康フロンティア戦略」において、健康対策の1つとして個人の特徴に応じた予防・治療（テーラーメイド医療）による「メタボリックシンドローム対策・糖尿病予防」の研究開発と普及等が重点的に推進する課題として位置づけられたところであるが、ここ1年半で約18の遺伝因子が確立された2型糖尿病について、本研究により現時点において早急にそれらの解析を進めることは、今後、国がテーラーメイド医療の研究・開発を進めるにあたり、貴重なデータとなることは間違いなく、早急にテーラーメイド医療を普及させるための基盤として、早急に整備する必要があると考える。

以上をふまえ、これまで国立国際医療センターにおいて研究目的で収集され

た臨床試料について、既報の「生体情報」の点から特徴づけてその価値を確定し、臨床情報と統合して日本人糖尿病を多角的に解析するための基盤リソースとすることを目的とした。

## B. 研究方法

研究分担者の安田（研究所・代謝疾患研究部長）らにより、現在までに当センターに通院中の糖尿病患者900名以上、非糖尿病対照者（原則60才以上）600名以上について、研究協力の同意を得てゲノム及び血清を収集しており、上述のGWASなどでその有用性は実証されている。さらに我々は、教育入院前後（約2-3週間のインターバルで代謝状態は劇的に改善）の同一人ペア血清を約200例収集している。この試料を対象に、既報の関連因子を測定し臨床情報との関連を検討すると共に、リソースバンクとしての有用性の検証を行い、今後の試料収集や臨床情報の収集、測定方法の吟味を行う。このような解析は、今回のようにできる限り多くの検体について、短時間に集中的に行うことで、貴重な臨床試料や、反応試薬の使用量を最小限に抑えることができ、コスト、時間、労力の面できわめて効率的であるとともに、かつ最も信頼性の高いデータを得ることができる。

（なお、研究方法の詳細は、安田の分担研究報告書に譲る）

### （1）ゲノム解析

1. 我々がGWASにより、最も重要な2型糖尿病遺伝子の一つとして最近報告した *KCNQ1* 遺伝子の SNP (Yasuda K et al. Nature Genetics 2008) をはじめ、欧米の報告も踏まえ、我々が日本人との関連を報告した 11 遺伝子（約 11SNP）について、TaqMan probe を作成してタイピングし、genotype を決定する。

2. 糖尿病の遺伝因子は、GWAS を中心に「common disease-common variant」仮説にもとづいて解析されてきたが、得られた遺伝因子は、オッズ比が最大で 1.5 程度と低いため、より効果の強い rare variant の存在が想定される。そこで収集試料のうち、若年発症糖尿病を対象として、報告されている MODY 遺伝子について、全エクソンのリシーケンス解析を行



う。

## (2) 血清を用いた解析

血清は、病態を反映するバイオマーカーの宝庫であるが、現在のトップダウン型のプロテオミクス技術では、微量タンパクを網羅性よく解析することは難しい。一方で、代謝や炎症関連などの病態に関連する生理活性物質は多数報告されており、個別の測定よりもその組み合わせが、よりよく病態を反映する可能性が指摘されている。最近、Luminex のビーズ技術を基として、少量の血清で10-20種の分子を同時に測定する技術が実用化されており、我々もこのシステムを導入している(バイオラッド社 BioPlex システム)。そこで、特定の病態や機能に関連した項目を同時測定できる市販のマルチプレックス測定キットを用いて、ヒト代謝関連マーカー、炎症関連マーカーなどを測定する。本研究期間には、同一人の血清で教育入院前後(約2-3週間のインターバルで代謝状態は劇的に改善)のペア血清140例を対象として測定をおこなった。これにより、こうした生理活性物質の個体差、入院による治療効果やその後の代謝状態との関係についての基礎データも得られると期待された。

## (3) 臨床情報

これについては既に糖尿病の必須項目として収集してある。上述した SNP タイピングデータ、生理活性物質やバイオマーカー濃度のデータなどととも、改めてデータベース化しておく。

今回、疾患との関連が既に証明あるいは強く想定されている遺伝因子と、バイオマーカー候補となるタンパクの両者を、臨床情報とともにデータベース化する。将来解析サンプル数を増やすことができれば、多変量解析により、遺伝子の効果をより直接的に反映するバイオマーカーの同定、遺伝子-遺伝子相互作用、遺伝子-環境相互作用、など新たな相関が得られる可能性も期待される。その結果をもとにして、さらに大規模な集団で検証することができれば、糖尿病やメタボリックシンドロームについて、画期的で、より特異的な診断・治療・予防の道を開くことも可能になる。

本研究により、健康対策の1つとして個人の特徴に応じた予防・治療(テー

ラーメイド医療)による「メタボリックシンドローム対策・糖尿病予防」の推進に資するとともに、国として取り組んでいる生活習慣病予防の政策目標である、「2015年度までに、生活習慣病有病者・予備群を25%減少させる」という目標の達成に向けた研究開発の基盤となると考える。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム及び血清の収集、解析については、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」「臨床研究に関する倫理指針」に準拠し、国立国際医療センター倫理審査委員会の承認を得ており、インフォームドコンセントの取得、試料の匿名化等による個人情報の保護に十分留意するなど、既取得サンプルを含め倫理面には十分な配慮を行った。

### C. 研究結果

(解析・測定結果の詳細とその考察は、本冊子の安田の分担研究報告に詳しいので、ここでは概略のみ記述する。)

(1) ゲノム解析

1. 2型糖尿病感受性11 SNPのタイピング

既報に基づき特に我々が日本人糖尿病との相関を確認した11 SNPについて、糖尿病患者のサンプルのDNAでTaqManプローブを用いてタイピングを行った。いくつかのSNPについては、genotypeのclusteringに苦労したが、概ねタイピングは良好であり、そのアレル頻度も我々の既報(Yasuda et al 2008; Miyake et al 2008; Horikawa et al 2008)とほぼ一致した。

2. 若年発症糖尿病を対象とした候補遺伝子リシークエンシング

35才発症の糖尿病約35名を対象にMODY3(HNF1A)のエクソリシークエンシングを行った。まだ進行中であるが、現在アミノ酸変異を伴う新規の遺伝子変異は同定されていない。

(2) 血清タンパク解析

入退院ペア血清のある140名のサンプルを用い、前述のDiabetes Assay kit

を用いた14項目の解析を行った。教育入院の2週間で大きく値が変動するマーカーは予想外に少なく、むしろ個体差が大きく存在した。既に生物学的意義がよく解析されているレプチンやアディポネクチンを含む脂肪組織由来マーカーについても、様々なパターンがあることがわかった。中には、複数項目を測定してはじめて発見されるような、隠れた病態が示唆される症例も見られた。また血清の採取・分離あるいは保存方法により予想外に大きな影響を受ける項目もあり、今後のバイオリソース構築に有用な情報が得られた。

#### D. 考察

糖尿病は、遺伝素因に環境要因が加わり、それらの相互作用により長期間を経て発症・進展する疾患であるが、そのメカニズムには不明の点が多い。最近我々のグループも含め(資料1)ゲノムワイド相関解析によって、2型糖尿病に関連する多くの遺伝子多型が同定されたが、いずれも単独での相対リスクは小さく、それらの臨床的有用性については、早急な検討が必要である。一方、海外の研究、あるいは我々の最近の日本人を用いた研究(資料2)でも、これらの遺伝子塩基配列情報による糖尿病発症の予測能は十分でない。したがって、複雑な病態の把握のためには、さらに新たな遺伝素因のほか、遺伝-環境相互作用、あるいは特異的なバイオマーカーを、統合的に解析する必要がある。

国立国際医療センター(平成22年度からは、独立行政法人国立国際医療研究センターとなる予定)は、総合的かつ先進的医療を取り扱うことを使命とするが、主に扱う病態の柱として、感染症、肝炎・免疫とともに糖尿病代謝疾患をあげている。そのためにセンター内で病院部門と研究所部門が有機的に連携する「糖尿病研究センター(ユニット)」の構築が望まれる(図2)。しかしこうしたセンターは前例がなく、データベースの構築、病態の解明、新しい診断・治療法のシーズの発掘などに真に有用な「糖尿病センター」の姿はまだ手探りの状況である。

最近、「未来型医療」の理想像として、「オミックス医療」の名のもと、ゲノムからトランスクリプトーム、プロテオーム、さらにはエピゲノムやメタボローム、グライコーム(糖鎖)などを包含した、統合的なオミックスデータを医療に活かそうとする動きが期待されている。ある解析から得られた分子の役割を他オミックスのデータと関連づけたり、異なる次元のオミックスデータを組み合わせ、より大規模な「データマイニング」を行ったりして、病態に関与



する新たなパスウェイ、あるいは診断マーカーや創薬標的を得ようとするものである。しかし、それぞれの次元のデータを網羅的に得ようとする

- 1) データが膨大になりすぎる
- 2) 各次元のデータの質が異なり関連づけが困難
- 3) 特にトップダウン型のデータの場合、機能的意義づけが困難
- 4) 各次元のデータ収集について、必要とする試料が異なる（例、ゲノムに必要な末梢血とプロテオーム情報のための罹患臓器・組織など）ため、そもそも大規模に収集するのが困難、かつ試料管理も大変である。
- 5) 多くの疾患を同時に扱う「バイオバンク構想」では、病態ごとに臨床情報の内容も異なり、各疾患に必要な情報が薄まりやすい

などの問題があり、また必ずしも十分な成果が得られていないのが現状である。

今回我々は、多次元的な解析が可能な糖尿病研究リソースの構築を試みた。将来の網羅的オミックス解析を念頭におく一方で、既に科学的あるいは臨床的意義づけがほぼ確立している項目について、まずデータを付与することで、収集したサンプルの科学的付加価値を高めることとし、具体的には遺伝因子と病態を反映する血中生理活性物質・バイオマーカーに注目した。特に **multiplex** 化された方法を取り入れることで、貴重な臨床試料から最大限にデータを得る見通しも立てることができた。こうした **SNP** や生理活性物質など世界的に「標準化」された「生体情報」を多数検証することで、世界の他の研究と比較解析が可能となり、複数のデータ、あるいは臨床データとの組み合わせにより、病態をより正確に診断することが可能になると期待される。すなわち、日本人糖尿病の病態本質の解明、病態の分類や予後予測などに真に有用なバイオマーカーの抽出が期待される。

糖尿病解析リソースとしては、これまでは、ともすると試料の「数」のみが注目されたが、将来の多次元的・網羅的な「オミックス医療」の時代への橋渡しとなるこうした系統立った基盤的なリソース作りは、日本では他に例がない画期的な試みであり、日本発のデータを発信する重要な柱となることは疑いない。

また今回のデータが、研究リソースの科学的有用性を高めることも期待され、同時に、格好の「生きた」準備データとして、将来の網羅的手法による糖尿病研究の重要なモデルケースとなると考えられる。



最後に、こうしたバイオリソースについて、糖尿病研究において将来期待される方向性について、考察しておきたい。

#### <将来期待される方向性①：エピジェネティクス解析>

遺伝素因—環境因子相互作用や、初期の血糖管理状態が細胞に長期間記憶され、以後の血管合併症の発症・進展に関連するという“metabolic memory”という概念などの本体はまだ不明であるが、その有力な候補として、遺伝子塩基配列の変化を伴わずに遺伝子発現や染色体機能の制御を行う「エピジェネティックな変化」が注目されている。この「エピジェネティクス」を担う要素として、DNAメチル化、ヒストン修飾、非コードRNAの3つが特に注目されている。このうち我々が収集したDNAサンプルについて、そのメチル化状態を検討することができるので、この「エピジェネティックな情報」を加えることで、糖尿病の病態やそのコントロール状態、合併症の発症や治療反応性との関連を調べることができる。

また、我々が同定した糖尿病関連遺伝子 *KCNQ1* が存在する染色体上の位置は、エピジェネティックな調節の関与が強く示唆されている領域である。*KCNQ1* を代表とする糖尿病関連遺伝子とエピジェネティックな制御の関係を調べることもできる。

エピジェネティックな制御は、ゲノム配列と違い組織によって異なるので、末梢血由来のDNAが、罹患臓器の状態を反映しているかどうかかわからない可能性があるという弱点はある。一方、環境因子の影響などは末梢血にもおよぶ可能性が高いこと、DNAメチル化状態は非常に安定な形質で、細胞分裂過程でもよく保たれること、そして何よりも、もし末梢血由来のDNAメチル化状態が病態のマーカーとなる可能性があれば、将来の診断的な価値は非常に大きいこと、などから、今後の検討が非常に強く期待される分野である。

一方で、エピジェネティックな情報については、ゲノム情報、臨床データ、発現情報（この場合は血中マーカー濃度で代用）、などと組み合わせて解釈する必要があり、我々が構築した重層的なバイオリソースの有用性はきわめて高いと思われる。

「国際ヒトエピゲノム計画」でも糖尿病患者への応用に着手した例はないようである。ヒト末梢白血球のエピゲノム情報のうち、糖尿病の発症やその病態、糖尿病合併症やその進行度を反映するバイオマーカー候補を抽出できれば、こ

これらのエピゲノム情報と、既知の遺伝子塩基配列情報をあわせて、病態の予測・診断を行う新たなアルゴリズムの策定も考えられる。それにより、新しい糖尿病テーラーメイド医療を確立できる可能性が期待される。

#### <将来期待される方向性②：メタボローム解析>

最近、質量分解計や NMR を用いた、代謝産物の網羅的解析、いわゆるメタボロミクス解析が可能になっている。現在は主に薬物副作用・毒性の観点からそのパターン化が注目され、米国 FDA など新薬の安全性に関わる基本的情報としてとりいれる方向性を示している。一方で、病態マーカーとしての可能性も期待されており、最近報告された、前立腺がんマーカーとしての **sarcosine** の同定 (*Nature* 2009) のほか、日本でも理研鶴岡研究所を中心いくつかの疾患のバイオマーカー候補が得られている。

代謝疾患では様々な代謝物の変動する可能性があるが、一方でヒトを含めた生体の代謝系は、本来容易に破綻しない、かなり「**robust** (頑強)」な調節系であり、変動する代謝物があれば病態の本質を現している可能性が高い。特に血中の代謝物マーカーが同定されれば、病態の分類診断だけでなく、治療効果の判定に応用できる可能性があり、臨床的に有用性はきわめて高い。血漿でなく血清で可能かどうか、年齢・性別や、採血時の状態（空腹、食後、薬物服用状態など）の影響があるのか、人種差があるのか、など基本的な検討を要する項目は多く、また網羅的な解析には特殊な機器が必要なものでなかなか難しいが、このような解析から得られた代謝物質のパリデーションに、我々のバイオリソースが有用であるかどうかの検討は、研究面でも臨床応用面でも非常に重要と考えている。

#### <将来期待される方向性③：より特異的な臨床的表現型の導入>

将来的に、個体レベルの「表現型」については、より特異的かつ本質的な検査が可能になると思われる。具体的には、内臓脂肪の量やその活性化レベルの定量化、基礎代謝の詳しい記述、クランプ法などによる臓器別のインスリン感受性定量、バイオイメージングによる膵β細胞量の測定など、が病態と関連して期待される。合併症関係でも、内皮細胞の障害のマーカー開発や、臓器障害の可視化、も有用であろう。昨今の急速なテクノロジーの進歩をみれば、臨床試料を用いた簡便かつ網羅的・正確な「オミックス」解析が可能になるのもそ

う遠い将来ではなく、これらの情報を加味したバイオリソースとなれば、その科学的有用性は飛躍的に増大すると思われる。

#### E. 結論

今回我々は、多次元的な解析が可能な糖尿病研究リソースの構築を試み、SNPや生理活性物質など世界的に「標準化」された「生体情報」の検証を行って、途中経過ながら、その有用性を示した。本研究で示した方向性により、将来全く新しい糖尿病テーラーメイド医療が確立されれば、糖尿病ならびにその合併症の発症進展を抑制し、国民の健康寿命の延伸に大いに役立つと期待される(図3)。

F. 健康危険情報(総括のみ): なし

#### G. 研究発表

論文発表: なし

学会発表: なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

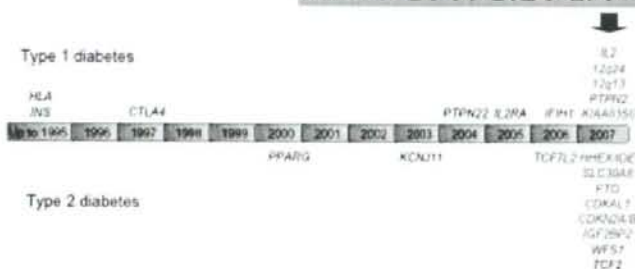
資料1: Yasuda K et al Nature Genetics 2008

資料2: Miyake K et al J Hum Genet *in press*

図1A

## 糖尿病遺伝因子同定の年表

GWASにともなう急速な増大!!



2型糖尿病の遺伝因子は、2007年に急速に増大し、これらのタイプング結果をもとにゲノムサンプルを議論しなくてはいけなくなったことがわかる。

Frayling, 2007より

B nature genetics

## 日本からも我々のグループが非常に有力な遺伝因子を報告した (2008年8月)

### Variants in *KCNQ1* are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus

Kazuki Yasuda<sup>1</sup>, Kazuki Miyake<sup>2</sup>, Yukio Horikawa<sup>3</sup>, Kazuo Hata<sup>4</sup>, Haruhiko Otsawa<sup>5</sup>, Hiroto Furuta<sup>6</sup>, Yushi Hirota<sup>7</sup>, Haruaki Mori<sup>8</sup>, Anna Jonsson<sup>9</sup>, Yoshifumi Sato<sup>9</sup>, Kazuya Yamagata<sup>9,10</sup>, Yoshinori Hinokei<sup>9</sup>, He-Yao Wang<sup>11,12</sup>, Toshihiko Tanahashi<sup>13</sup>, Naoto Nakamura<sup>14</sup>, Yoshitomo Oka<sup>15</sup>, Naoko Iwasaki<sup>16</sup>, Yoshihiko Iwamoto<sup>17</sup>, Yuichiro Yamada<sup>17,18</sup>, Yutaka Seino<sup>19,20</sup>, Hiroshi Morigawa<sup>21</sup>, Atsumori Kashiwagi<sup>22</sup>, Jun Takada<sup>23</sup>, Fiechi Marde<sup>24</sup>, Hyung Doo Shin<sup>25</sup>, Young Min Cho<sup>26</sup>, Kyung Soo Park<sup>27</sup>, Hong Kyu Lee<sup>28</sup>, Maggie C. Y. Ng<sup>29</sup>, Rosalind C.W. Ma<sup>30</sup>, Wing Yee So<sup>31</sup>, Juliana C. N. Chan<sup>32</sup>, Václava Lyssenko<sup>33</sup>, Timamaila Tuomi<sup>34</sup>, Peter Nilsson<sup>35</sup>, Leif Groop<sup>36</sup>, Naoyuki Kamatani<sup>37</sup>, Akihito Sekino<sup>38,39</sup>, Yusuke Nakamura<sup>40</sup>, Ken Yamamoto<sup>41</sup>, Teruhiko Yoshida<sup>42</sup>, Kazushige Tokunaga<sup>43</sup>, Mitsuo Iwakura<sup>44</sup>, Hideichi Makino<sup>45</sup>, Kishio Naito<sup>46</sup>, Takashi Kadovak<sup>47</sup> & Masato Kasuga<sup>48</sup>

We carried out a multiethnic genome-wide association study of type 2 diabetes mellitus in Japanese individuals, with a total of 1,612 cases and 1,414 controls and 100,000 SNPs. The most significant association was obtained with SNPs in *KCNQ1*, and dense mapping within the gene revealed that rs2237882 on chromosome 12 showed the lowest *P* value ( $1.7 \times 10^{-11}$ , odds ratio (OR) = 1.49). The association of *KCNQ1* with type 2 diabetes was replicated in populations of Korean, Chinese and European ancestry as well as in two independent Japanese populations, and meta-analysis with a total of 19,910 individuals (9,563 cases and 10,347 controls) yielded a *P* value of  $1.7 \times 10^{-14}$  (OR = 1.48, 95% CI = 1.34–1.67) for rs2237882. Among control subjects, the risk allele of this polymorphism was

associated with impairment of insulin secretion according to the homeostasis model assessment of  $\beta$ -cell function or the corrected insulin response. Our data thus implicate *KCNQ1* as a diabetes susceptibility gene in groups of diverse ancestries.

In Japan, the prevalence of type 2 diabetes mellitus is increasing rapidly, and more than 10% of individuals over 40 years of age are affected. Distinctly low diabetes prevalence in Japan are observed, and improvement of insulin secretion (IS) develops before the onset of diabetes<sup>1</sup>. As part of a national project designed to identify genetic factors that predispose to type 2 diabetes, we began a multiethnic genome-wide association study (GWAS) to identify disease-associated SNPs for type 2 diabetes mellitus using 100,000 SNPs from a collection of

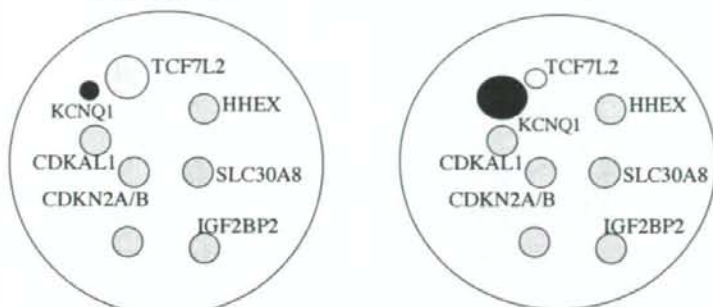
Yasuda K et al. Nature Genetics 40(9): 1092–1097, 2008.



### C: 2型糖尿病遺伝因子の人種比較

白人のGWASより

日本人



かなりの遺伝因子は、人種をこえて存在しており、  
これらをタイピングして議論するのが今は「世界標準」  
として必須

### D: 2型糖尿病GWASの年表

Populations	1次	Platform	Outcome
French (Sladek et al)	661 vs 614	IL300	TCF7L2, SLC30A8, CDKAL1, HHEX etc
Icelanders (Steinthorsdottir et al)	1,399 vs 5,275	IL300	
WTCCC/UK T2DGC	1,924 vs 2,938	AF500	
DGI	1,464 vs 1,467	AF500	
FUSION	1,161 vs 1,174	IL300	
Diagen Consortium (Four Caucasian panels)	500 vs 497	IL300	TCF7L2 etc AH1-LOC441171
Mexican American/Pima Indians (Young) /FHS/Old Older Amish	120-300 cases for each	AF100	combined analysis
WTCCC+DGI+FUSION (Zeggini et al 2008)	-4,500 vs -5,500	AF+IL (meta analysis)	New genes

First wave

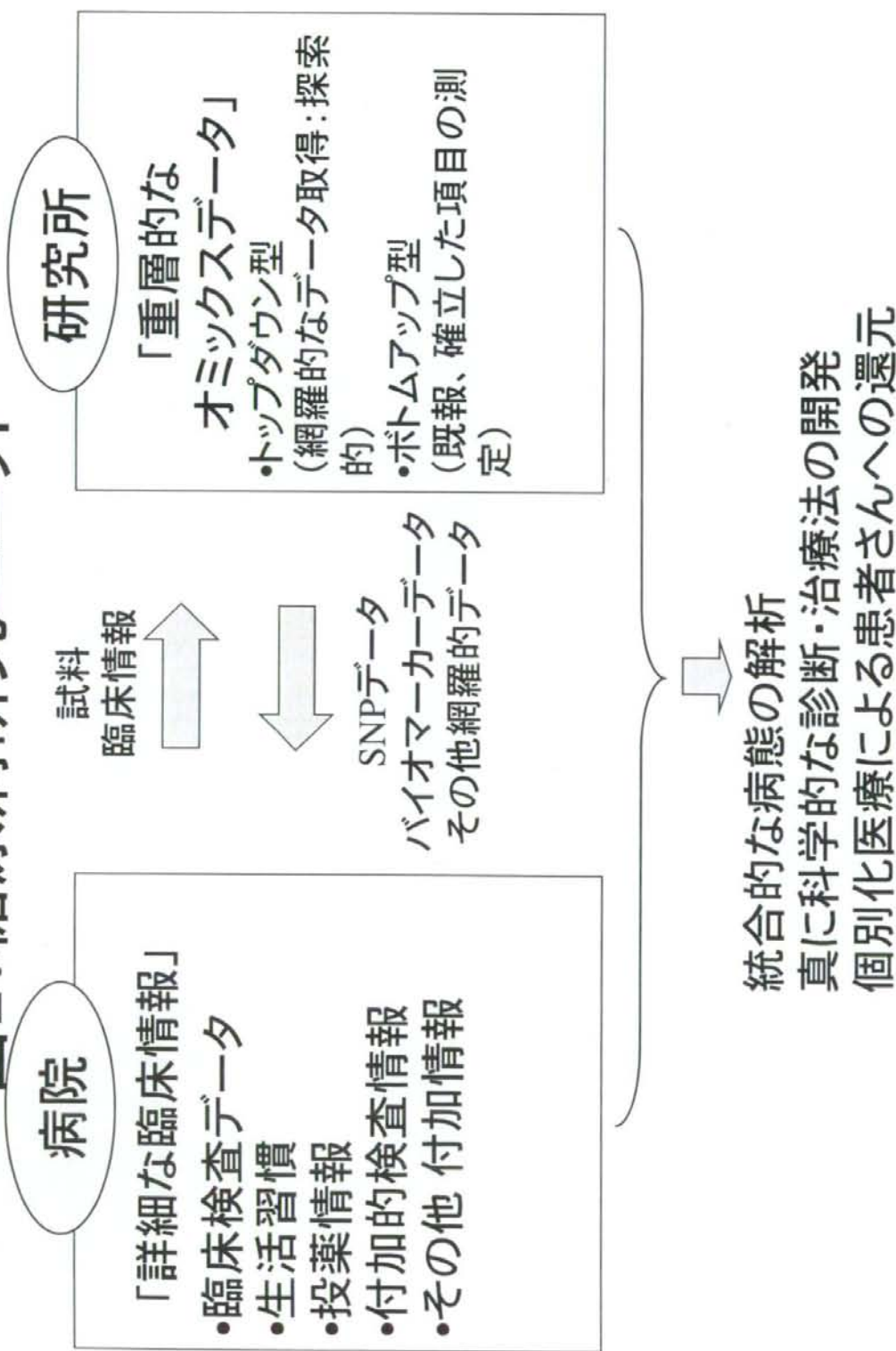
2007

Second wave

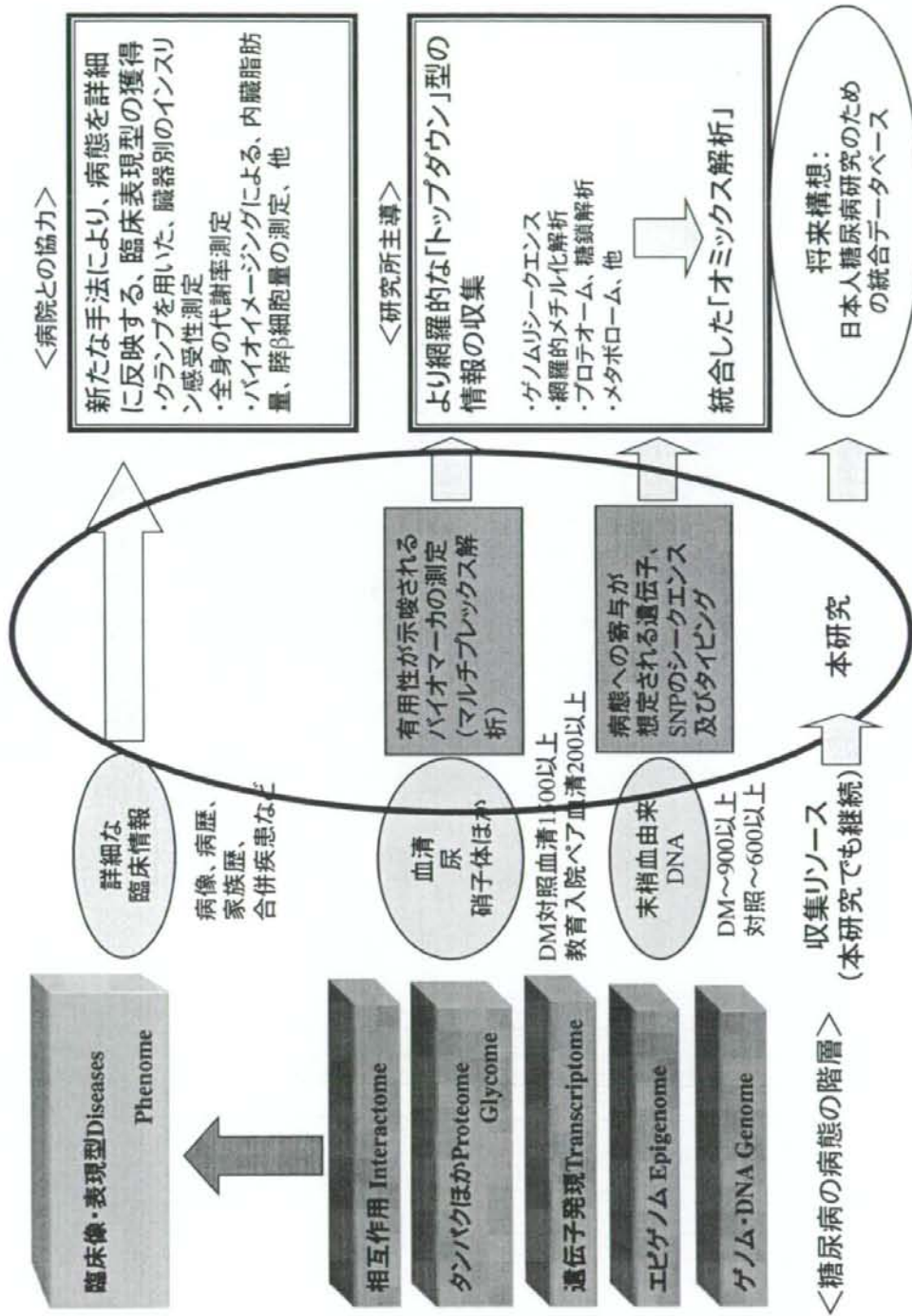
2008

2008年になり、いわば「second wave」としてさらに8~10個の遺伝因子が報告された。  
現在、我々の報告も含め少なくとも20遺伝子程度が確立されている。  
これらについてのタイピングは、すべての解析において必須である。

## 図2: 糖尿病研究ユニット



# 図3「糖尿病研究バイオリソース」の階層と流れ



# 資 料