

今回教育入院前後の血清で検討したところ、まず個人差が非常に大きいことがわかった。一般に Leptin 値は BMI あるいは体脂肪量とよく相関するとされる。今回最も BMI の大きい症例 (BMI60、morbid obesity) では、確かに Leptin 高値であったが、BMI30 程度の症例と同程度であり、また入院中 27kg 減量したにもかかわらず、ほとんどこの値は変化しなかった。これが、脂肪量がある程度以上大きくなると Leptin 産生にブレーキがかかる何らかの feedback 機構があるのか、あるいは Leptin 産生がもともと低めであると (相対的な Leptin 欠乏) が、この症例の肥満の病態に寄与している可能性もありうる。このような「相対的 Leptin 欠乏」の症例を集めて、leptin 遺伝子 (LEP) の多型の検討を始めている。

Adiponectin 値についても、個体差が大きく認められた。入院加療により、糖尿病コントロールは一般に改善するので、同一症例では「善玉」である Adiponectin も基本的には増加するのではないかと想像したが、必ずしもそのような一定した傾向は見られず、ほとんどが横ばい、むしろ低下した症例も少なくない。短期間の治療では Adiponectin の産生がすぐには増加しないのか、血糖改善に Adiponectin は直接寄与していないのか、理由は不明である。最近 Adiponectin が重合した高分子 Adiponectin が、より鋭敏な代謝マーカーとも報告されており、今回のような全 Adiponectin では陽性の結果が出ないのかもしれない。退院時に入院時の 2 倍以上になった例はごくわずかであり、これらは入院中に PPAR γ アゴニストであるインスリン感受性改善薬 (チアゾリジン系) 投与を開始されており、このためと考えられる。

Leptin と Adiponectin は、ともに脂肪組織から分泌される代表的なホルモン (アディポカイン) だが、非常に大まかには前者が脂肪組織「量」を反映するのに対して、後者はインスリン感受性に関連し、脂肪組織の「質」を反映すると言える。したがって、両者は必ずしもパラレルでなく、両者の比 Leptin/Adiponectin 比 (L/A 比) が代謝状態のよい指標となりうる可能性も提唱されている。

今回、①BMI が小さく、L/A 比がきわめて低い例、②BMI が大きく、しかし L/A 比がそれほど大きくない例、③BMI は平均に近いにもかかわらず、L/A 比が小さい例、などが認められた。

また、入院時に L/A 比が大きく変動した例は、入院中にインスリン抵抗性改善剤 (チアゾリジン誘導体) の投与がなされ、そのために Adiponectin 値が

増加していることが多かった。このとき他の脂肪組織由来マーカー（Adipsin、TNF α 、など）は必ずしも一定の変化傾向を示さなかったことから、L/A比のみで真の代謝状態を反映できるのかは、まだ確定できないといえる。

Adipsin（正式名は complement factor D）は、脂肪組織に高発現するトリプシントイプのペプチダーゼであり、補体系の一員であることから、脂肪組織における免疫・炎症システムへの関与が想定される。しかし血中濃度とヒト脂肪、糖尿病、代謝疾患については、確立した関連は報告されていない。Visfatin は、pre β cell colony-enhancing factor などと呼ばれ、血管平滑筋細胞の成熟促進や好中球アポトーシス抑制など幅広い生活作用をもつ。インスリン類似作用をもち、血糖降下作用があると報告されたが、その制御機構はわかっていない。血中濃度と病態との関連としては、体重が減少すると Leptin と共に低下すること、内皮障害と関連する可能性があること、などが報告されているが、2型糖尿病の病態においては、インスリン抵抗性の強い症例で高いという報告と逆の報告もあり、見解は必ずしも一定していない。

今回の試料によるデータでは、これらについても、代謝状態による制御機構よりも、個体差が前面にでており、今後症例を増やして新たな意義が発見される可能性がある。

GLP-1、GIP は、腸管内分泌細胞から分泌され膵 β 細胞の細胞膜上の特異受容体に結合し、インスリン分泌の促進をもたらすいわゆる「インクレチン」である。特に GLP-1 は、グルカゴン分泌抑制、膵 β 細胞保護作用、食欲抑制などの多彩な作用をもつ。体内では、DPP-IV というタンパク分解酵素により速やかに分解されるため、血中の半減期は非常に短く、分のオーダーである。このため、分解されにくい「GLP-1 誘導体」や分解酵素を治療標的とした「DPP-IV 阻害剤」が開発され、2型糖尿病の血糖コントロールを改善させること、「二次無効」などが懸念される SU 剤と異なり、上記で述べたように膵 β 細胞の保護作用も期待されることから、現在世界で臨床応用が始まり、日本でも近々認可されると思われる、しかしこのため通常の方法で採血、遠心分離した血清で測定したのでは信頼できる値が得られず、DPP-IV 阻害剤の添加が必要とされている。

血中 GLP-1、GIP 濃度の2型糖尿病患者における分布、これらの濃度による病態の違いや GLP-1 関連製剤の治療反応性の違い、などについては報告が必ず

しも一定しておらず、不明の点が多い。今回は通常の方法で保存した血清を用いたため、この点 GIP、GLP-1 の値は信頼できず実際検出感度以下のものも多かったが、同一症例では入退院で同程度の値を示すことが多く、やはりかなりの個人差が存在することが疑われた。これは将来 GLP-1 関連の治療薬の選択において、有用な情報を提供する可能性がある。

このほか、炎症関連の TNF- α 、IL-6 などについても、肥満症例の一部で高い傾向があるなど、興味深い傾向が見られ、今後の検証すべきテーマが明らかになりつつあるといえよう。

多項目を測定することで思わぬ所見が見られた症例もある (図)。

症例 T.A は 73 才女性で、50 才で糖尿病を発症し、56 才からインスリン治療を行っている。この症例の特徴は、入退院時とも血中 Insulin、C peptide、Leptin、Glucagon、TNF α 、IL-6、Ghrelin、さらに参考値ながら GLP-1 や GIP が非常に高値であることである (表 1)。BMI は 19.0 と肥満はなく、合併症としては、神経伝導速度では神経障害は軽度だが、そのわりに筋力低下がみられ、単純性網膜症があるが、腎症は 2 期であり、血中濃度に影響をきたしうのような腎障害や肝障害はみられない。

例えば、インスリン値のみの異常高値であれば、インスリン抗体の出現が第一に考えられるが、これだけ多くの物質の濃度が上昇しており、しかも治療によっても大きく変動しないとすると、ほかの原因、何らかのクリアランス低下、ペプチド分解酵素活性の低下、あるいは多くのペプチドに対する自己抗体の存在、などが考えられる。これまで carboxypeptidase H (CPH) の遺伝子異常など、一般にエンドペプチダーゼの異常として報告された症例は、脳内ペプチドの変化をきたして肥満を生じることが多いが、本症例は明らかな肥満はなく、全く別の病態が考えられる。

血中濃度異常が本症例の糖尿病の病態に寄与しているのかは不明であるが、興味深い症例と思われる。本症例は同意をとってゲノムを取得してあり、いくつかの候補遺伝子の異常のスクリーニングを開始している。これも、今回のように重層的な試料収集を行ったメリットの一つと言える。

<統合オミックス解析の立場から>

個々のオミックスの解析精度は、近年の技術の進歩により大幅に向上しつつある。一方で、基盤的な疾患研究から同定された重要な分子が候補マーカーとして検討された例も多く、疾患や病態に関連するマーカーは、がんをはじめとして増加しつつある。しかしながら、糖尿病のような複雑かつ不均一な病態とステージを意義のある形で分類し、個別化した医療を可能にするマーカーは、まだほとんど存在していない。

多面的なオミックスデータの解析は、よりゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボローム、その他個々のそれぞれが生命現象や病態のある側面を切り取り反映している。それぞれのオミックスは、本質的に長所と弱点をあわせもっている。また、「DNA→RNA→タンパク質」という生命現象の「セントラルドグマ」が長年信じられてきたが、近年ゲノムの動的変化やエピジェネティクス、膨大な「RNA World」の存在その他、この単純なモデルでは説明のつかない生命の複雑さが明らかになりつつある。従って、異なる次元のオミックス情報は、単純な「階層」ではなく、相互に関連しあったネットワークとしてとらえられるべきであり、複数の次元のオミックス情報を相互に組み合わせ統合することにより、生物学的・医学的に重要な情報を得ることができると期待される。

マーカー探索の段階において、個々のオミックスの研究に加えて異なる次元のオミックスデータを突き合わせることで、それぞれのオミックスの弱点を補い合うことができる、より重要な分子やパスウェイが明らかになる。また、また明らかになったマーカーの応用段階では、コストや簡便性の点から、検索できるマーカーは限られるが、異なるタイプのマーカー（例えば SNP 情報+血清マーカー情報+薬物処方情報）を組み合わせることで、より有用な個別化が可能になると思われる。げっ歯類モデルの糖尿病は多くの点で、臨床の場のヒト糖尿病と異なることが知られており、こうした病態診断・創薬標的同定にかかわる研究・バリデーションにはヒトを用いる必要があるが、特に糖尿病では、罹患した臓器をとることが難しく、臨床的に入手可能な試料での研究が必要である。

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。

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。

また今回のデータが、研究リソースの有用性を高めることは疑いなく、このようなデータを基盤とした「糖尿病解析センター」は、将来の糖尿病研究の重要なモデルケースとなると考えられる。

E. 結論

ヒト糖尿病の多彩な病態を解析する目的で我々が収集した臨床試料を用いて、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」についての「ボトムアップ型」の情報収集を行った。その結果、こうしたバイオリソースの有用性および課題が、明らかになってきたと思われる。今回のデータが、我々の研究リソースの有用性を高めることは疑いなく、またこのようなデータを基盤とした「糖尿病解析センター」は、将来の糖尿病研究の重要なモデルケースとなると期待される。

F. 健康危険情報

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

表1. SNPタイピングを行った日本人2型糖尿病関連遺伝子

遺伝子名	染色体	SNP ID	遺伝子記名
KCNQ1	11	rs2237892	電位依存性Kチャネル
TCF7L2	10	rs7903146	転写因子
CDKAL1	6	rs7754840	細胞周期関連
CDKN2A/B	9	rs10811661	細胞周期関連
IGF2BP2	3	rs1470579	IGF2 mRNA結合タンパク
SLC30A8	8	rs3802177	亜鉛トランスポーター(群島特異的)
HHEX	10	rs7923837	転写因子
GCKR	2	rs780094	グルコキナーゼ制御タンパク
HNF1B	17	rs4430796	転写因子
KCNJ11	11	rs5219	ATP感受性Kチャネル
PPARG	3	rs1801282	転写因子

表2. 血清を用いたmultiplexアッセイの項目 (BioPlex Proシリーズ)

Human Diabetes Assay Panel	Human Angiogenesis Assay Panel	Human Cytokine Assay Panel	Human Acute Phase Assay Panel
C-peptide	Angiopoietin-2	IL-1 β	Ferritin
Ghrelin	Follistatin	IL-2	Fibrinogen
GLP	G-CSF	IL-4	Procalcitonin
GLP-1	HGF	IL-5	Serum Amyloid A
Glucagon	IL-8	IL-6	Tissue Plasminogen Activator
IL-6	Leptin	IL-8	α -2-Macroglobulin
Insulin	PDGF-BB	IL-10	CRP
Leptin	PECAM-1	IL-12(p70)	Haptoglobin
PAI-1	VEGF	IL-13	Serum Amyloid P
Resistin		IFN- γ	
TNF- α		TNF- α	
Visfatin			
Adiponectin ^{**}			
Adipsin ^{**}			

図. 症例 T. A. 73才女性

50才で糖尿病を発症

56才からインスリン治療を開始、現在1日4回投与

(合計50単位)、HbA1c8.0%、BMI19.0

合併症：神経伝導速度障害は軽度だが、両下肢筋力低下が強い

単純性網膜症、腎症2期

明らかかな肝障害、腎障害なし

入院時→退院時データ (単位：Pg/ml)

•Insulin 12200→10837

•Leptin 4902→3721

•Glucagon 3203→2412

•Adiponectin $1489 \times 10^4 \rightarrow 1188 \times 10^4$