

1. KCNQ1

日本における「ミレニアムプロジェクト」の一環として、10万SNPを用いた多段階スクリーニングが行われ、その結果KCNQ1という新しい2型糖尿病遺伝因子が得られた。この遺伝子は、韓国人、中国人などの東アジア人や、北欧白人でも強力な2型糖尿病の遺伝因子であることが明らかになった⁷⁾。全く独立に行われたプロジェクトでも同様の報告があり⁸⁾、日本人2型糖尿病において、非常に重要な遺伝因子と思われる。

KCNQ1は、細胞膜上に存在する電位依存性Kチャンネルの1つである、Kv7.1の α サブユニットをコードしており、機能喪失性変異がヒトにおいてQT延長症候群の原因となることが知られていた。KCNQ1遺伝子のSNPは、インスリン分泌障害を介して2型糖尿病のリスクを高めると考えられているが、そのメカニズムは今後の研究課題である。最近rs151290の多型がインクレチンを介したインスリン分泌に関連している可能性¹⁰⁾や、全身ノックアウトマウスの解析より、KCNQ1がカリウムの取り込み、細胞内pH、肝臓、筋肉、腎臓、肺などのインスリン感受性に関連している可能性が報告されている¹¹⁾。また遺伝学的にもこの領域はBeckwith-Wiedemann症候群のインプリンティング領域としても知られており、多型による遺伝子効果との関連の可能性も考えねばならない¹²⁾。

2. TCF7L2(transcription factor 7-like2)

TCF7L2はTCF7L1とTCF7like HMG boxをもつ転写因子ファミリーを構成しており、WNT(WINGLESS-TYPE MMTV INTEGRATION SITE FAMILY)シグナルパスウェイに属する転写因子であることが知られており、もともと癌との関わりが知られていた。 β -cateninがAPCやGSK3 β による制御から離れ、標的遺伝子のMYCがCDKN1Aを抑制し分化ではなく増殖に向かわせると考えられている。TCF7L2ノックアウトマウスは生後すぐ死亡する。新生児の腸上皮は完全に分化した細胞で構成されており、杯細胞も形成されるが、幹細胞から分化する腸内分泌細胞は形成されていない¹³⁾。10種類の7回膜貫通型受容体Fzdとともに、受容体複合体を構成するもう1つの膜蛋白LRP-5/-6がWNTシグナルの認識に必須であるが、LRP-5がコレステロール代謝やインスリン分泌に深く関与し

ていることも興味深い¹⁴⁾。他にWnt10bがadipogenesisを抑制し、前脂肪細胞を未分化な状態のままとどめることや¹⁵⁾、WNT5BのSNPが糖尿病発症リスクとアディポカインの産生過剰を介して相関していることも報告されている¹⁶⁾。膵 β 細胞においては、その分化・増殖・アポトーシス・インスリン分泌などを直接制御すると考えられている。その後の各国の施設から報告された関連解析(GWASを含む)で、ほぼすべて2型糖尿病との関連が示されており、現在2型糖尿病の感受性遺伝子として最も注目されている。

最近の報告でTCF7L2 rs7903146のリスクアリルとインスリンの分泌低下、インクレチン効果の低下、糖新生の亢進、TCF7L2の発現レベルに有意な相関が認められた。また糖尿病の患者の膵島ではTCF7L2 mRNAが約5倍発現しており、TCF7L2のヒト膵島での過剰発現がブドウ糖反応性のインスリン分泌を抑制することもわかった¹⁷⁾。さらにこのTCF7L2のリスク多型は、DPP(Diabetes Prevention Program)に参加しているIGTの人の糖尿病への進展にインスリン分泌不全を介して関与しており、抵抗性改善薬のメトフォルミンより生活習慣への介入のほうが、より強く糖尿病発症が抑制され、環境因子が遺伝子を凌駕していることを意味している¹⁸⁾。一方発症後の糖尿病患者においては、TCF7L2のリスクアリルのホモキャリアでは、治療薬のなかでSU剤の効果が弱い可能性を示す報告があり、薬剤選択に役立つ可能性がある¹⁹⁾。また最近の研究では食事応答性のインスリン分泌が低下しており、インクレチン作用の低下の可能性が明らかになっている²⁰⁾。さらにヒトの膵島でTCF7L2をノックダウンした成績では、GLP-1受容体の発現低下やそれに基づくAKTの不活化、そしてFOXO1の活性化、GSK3の活性化、膵 β 細胞アポトーシスの増加が認められている²¹⁾。

TCF7L2の糖尿病感受性アリルがこの遺伝子の発現レベルをどういった機構で変化させるのか、また真の感受性アリルが本遺伝子領域外にありうるのかなど依然不明な部分があるにせよ、これだけ人種を超えて強い相関が認められた遺伝子は現在までなく、この感受性アリルのオーダーメイド医療への展開が今後期待される。

3. *CDKAL1* (CDK5 regulatory subunit associated protein 1-like 1)

この遺伝子の機能は現在のところ明らかではないが、 β 細胞に高発現し、 β 細胞の機能の維持に必要と考えられているCDK5の活性化を抑制することが知られている。p35-CDK5複合体がインスリンの発現を抑制することが知られており²⁹⁾、リスクアレルが健常者でインスリン分泌を低下させる成績が報告されている。

4. *HHEX* (Hematopoietically expressed homeobox)

*HHEX*は肝臓と膵臓の発達に不可欠の転写因子で、WNTシグナルパスウェイに関係し、TCF7L2の標的遺伝子の1つである。WNTシグナルのon-offが肝臓、膵臓の分化には重要であることが知られており²⁹⁾、*HHEX*も腸管からの膵初期発生に関与するとされる。リスクアレルが健常者でインスリン分泌を低下させる成績が報告されつつある。この候補領域は295kbにまたがっており他に*KIF11*や*IDE*が含まれ、責任遺伝子の確定も含め今後の詳細な検討が引き続き必要である。

5. *CDKN2B* (Cyclin dependent kinase inhibitor 2B)

*CDKN2B*は*CDKN2A*と並んで染色体9番の短腕に位置しているサイクリン依存性キナーゼ(CDK4, 6)インヒビターで、膵島、脂肪細胞、小腸、大腸に発現している²⁴⁾。また、腫瘍抑制遺伝子でもあり、エイジングにも重要な役割を果たしている可能性がいわれている。しかし感受性アレルは*CDKN2B*の3'端から120kbも離れており、他の未知遺伝子あるいは本遺伝子の未知の制御エレメントにあるのかもしれない。なお*CDKN2A*過剰発現が老化マウスで膵島の再生を抑制することは興味深い²⁵⁾。

6. *IGF2BP2* (Insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 2 or IMP2)

*IGF2BP2*はIGF2 mRNAの5'UTRに結合しIGF2の翻訳を制御する。IGF2は発達、成長、インスリン作用刺激に関わっているインスリン様成長因子である²⁶⁾。

7. *JAZF1* (Juxtaposed with another zinc finger gene 1)

*JAZF1*は7p15.2-p15.1に位置し、C2H2タイプのZnフィンガーを3個有する核内蛋白をコードして

おり、リガンド不明である核内受容体である*NR2C2*の転写を抑制する。*Nr2c2*のノックアウトマウスでは成長遅延、低血糖、PEPCK活性の低下による糖新生の低下が認められている。*JAZF1*は膵臓で発現しており、変異により β 細胞量や機能に影響する可能性が考えられる。また前立腺癌のゲノムワイド関連解析により、イントロン2のSNP(rs10486567)に関連性が報告されている^{27,28)}。

このほか、やはり糖尿病の遺伝因子として報告された遺伝子に、機能不明だった*FTO*があるが、日本人では糖尿病と関連せず、その後の検討によりこの遺伝子はむしろ肥満の遺伝因子であること、DNA脱メチル化酵素活性をもち、エピジェネティックな制御に関与する可能性があることも報告された^{29,30)}。

II. GWASにより現在までに明らかになったこと(図1)

GWASからわかったことは、まずわれわれの予想に違わず2型糖尿病はヘテロな疾患であり、当初の予想よりもさらに多くの感受性遺伝子が存在することである。しかもそれぞれの効果(オッズ比)・浸透率は弱く、「主働遺伝子」は見当たらないことである。コーカシアンでいえば、同定された15遺伝子の30個の危険アレルのうち、人口の99%が3割以上の危険アレルを所有しているにもかかわらず、たったの8~10%しか糖尿病にならず、これは日本においても同様である。これは裏を返せば、高血糖発症には環境因子が重要ということである。いわゆる生活習慣だけでなく、母体肥満、子宮内環境、栄養素、腸内細菌叢などの環境因子も、環境刺激への代謝応答の発達とプログラミングに影響を与えることは間違いない³¹⁾。実際、出生時低体重の糖尿病発症に与えるリスクは、現在まで最も大きい遺伝リスクをもつ*TCF7L2*の感受性アレルのリスクとほぼ同じであることは注目に値する。胎児期の栄養環境を含めた子宮内環境が何らかの形で記憶され、その後の糖尿病や肥満症の易発症性を規定すると考えられているが、この記憶の仕組みとして、遺伝子の塩基配列の変化を伴わないDNAのメチル化など、エピジェネティックな遺伝子発現制御機構が想定されており、儉約表現型仮説の説明となっている。DNAのメチル化は生殖細胞では一度リセットされると考えら

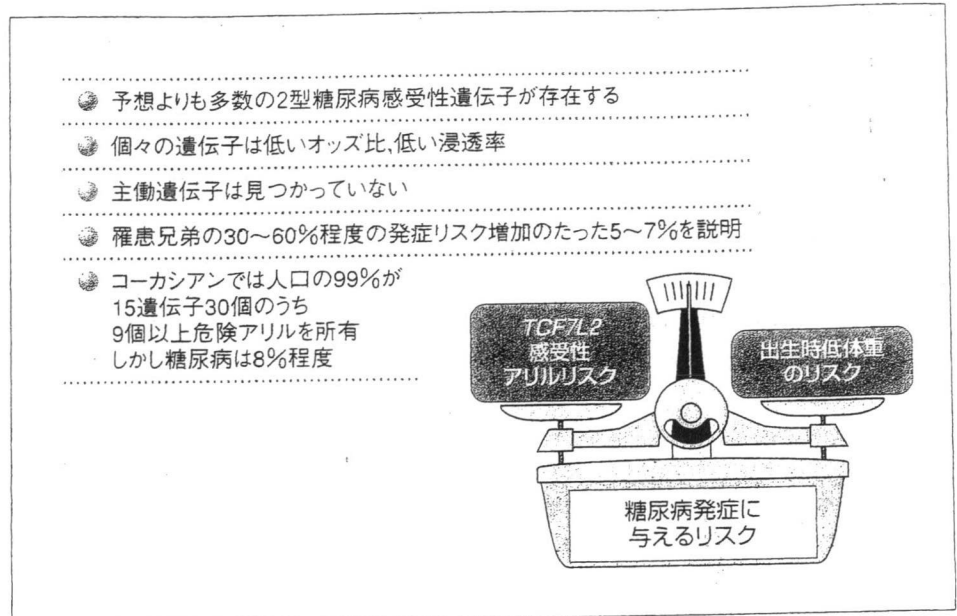


図1 全ゲノムワイド関連解析で現在までに判明したこと

れており遺伝はしない。一方体細胞では、個体発生の時期や癌形成の過程を除いて一生変化することはないといわれてきたが、最近では環境因子によるDNAメチル化状態の変化もいわれている。メチオニン、葉酸、ビタミンB₁₂などの栄養素が胎児期のみならず、成長期にDNA、ヒストンのメチル化に影響を与えていると考えられている²⁰⁾。

われわれはこれまで、CDCV(Common Disease Common Variant)の仮説をたてて2型糖尿病遺伝子同定を進めてきたが、低頻度で高浸透率の2型糖尿病の感受性アリルがあるとすると、高頻度アリルに主目をおいた現在のGWASの方法論では捉えられないことにも注意すべきである。こうした頻度の低い糖尿病感受性アリルを捉えるためには、より多くの数のサンプルを用いて関連解析の検出力を上げるか、後述する次世代シーケンシステムを用いたゲノムリシーケンズなどの他の方法論が必要になる。また、GWASでこれまで同定された感受性SNPは、ある遺伝子のイントロンに存在することが多いが、その遺伝子が真の疾患感受性遺伝子かどうか検証する必要がある。なぜなら、ほとんどの感受性アリルの存在する連鎖不平衡ブロックの中には複数の遺伝子が存在すること、さらにゲノム上で遺伝子cis-調節領域の約

半分は標的遺伝子から1Mb程度離れていることもあることから、イントロンの感受性アリルが、その遺伝子でなく、近隣遺伝子の発現を制御している可能性があるからである。今後はまず、現在までに同定された感受性遺伝子座を、組み換えが多く、連鎖不平衡領域が短いアフリカ系サンプルのデータを参考にしながら詳細にマッピングしたり、南アジア人、メキシコ系アメリカ人、ピマインディアンなど、糖尿病の頻度が非常に高いサンプルでの感受性遺伝子アリルを検証しなくてはならない。

疾患予測については、現在までにコーカシアンで同定された15個の2型糖尿病感受性遺伝子を考えてみても、97%の人は1/3以上個のリスクアリルをもっていて、このひとつひとつの遺伝子効果を対数相加効果と考えると、全危険アリルの6、7割個もっている1.5%の人の糖尿病発症増加効果は、3割以下の1.5%の人の6倍程度になり、発症予測確率も7%から17%と約10%程度は上がる²¹⁾。しかし全危険アリルの5~6割個もっている人と比べてたったの3%増加するだけであり、予測効果には疑問が残る。われわれの試算でも日本人で同様の成績が得られ、全危険アリルの6、7割個をもつ人で発症予測確率(事後確率)が7%が

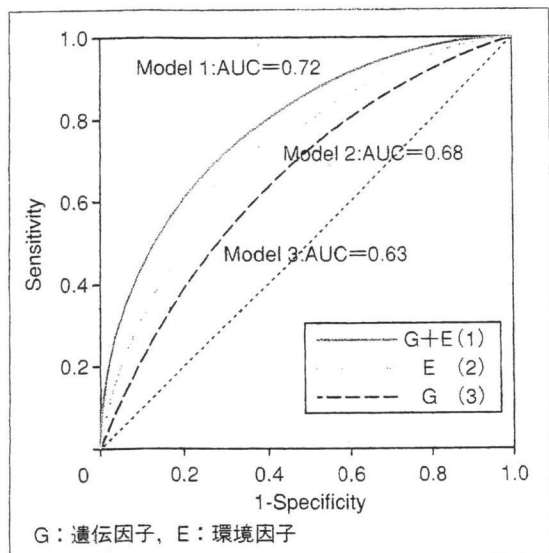


図2 2型糖尿病予測モデルのROC曲線
文献33)より引用改変

ら12%に上がるのみである。KCNQ1, TCF7L2, CDKAL1, CDKN2A/B, IGF2BP2, SLC30A8, HHEX, GCKR, HNF1B, KCNJ11, PPARG の糖尿病感受性アリルを用いた日本人の成績では、糖尿病は年齢、

BMI, 性で68%の確立で決定できるが、そこに遺伝子アリルを足してもその確立が72%に上がるのみであった³³⁾(図2)。またごく最近、白人のコホートを用いた検討により、10~18の遺伝因子(KCNQ1は含まれない)を用いた成績では、従来の危険因子(肥満、家族歴など)に比べて遺伝子多型による糖尿病の発症予測の有用性は低いという報告もなされた^{34, 35)}。したがって、遺伝因子は環境因子に比べて発症予測力が低いと考えられるが、これはわれわれがまだ表現型を説明するに十分な遺伝子多型を網羅できてないことを意味するのであろう。しかし環境因子に遺伝子多型を足すことにより、僅かながら予測率が上がることも事実であり、これは遺伝子多型がまだ明らかにされていない糖尿病発症メカニズムの存在を示唆しているものと考えられる。また長期観察期間をおけば、遺伝因子の発症予測は上がることも明らかになっており、これは観察期間が短期間である程、発症予測力が上がる環境因子とは対照的である。したがって、なるべく早く生下時に体質診断をすることは発症予測に有用であることは間違いのない³⁵⁾(図3)。

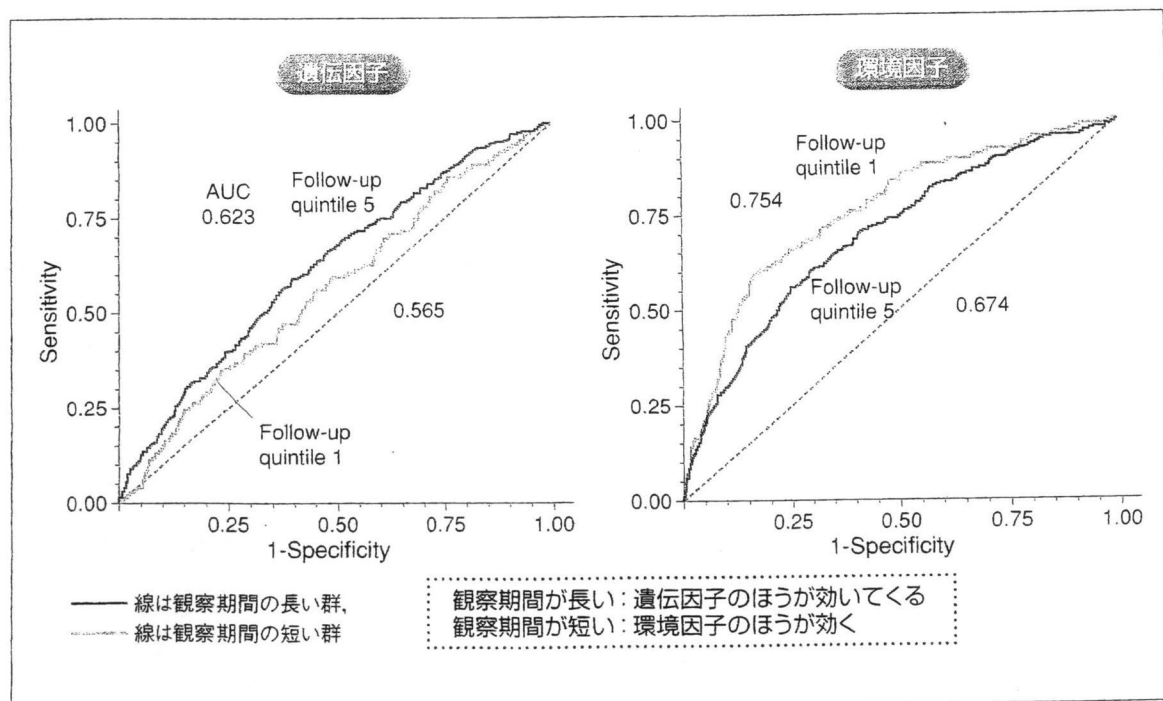


図3 遺伝因子か環境因子か?

文献35)より引用改変

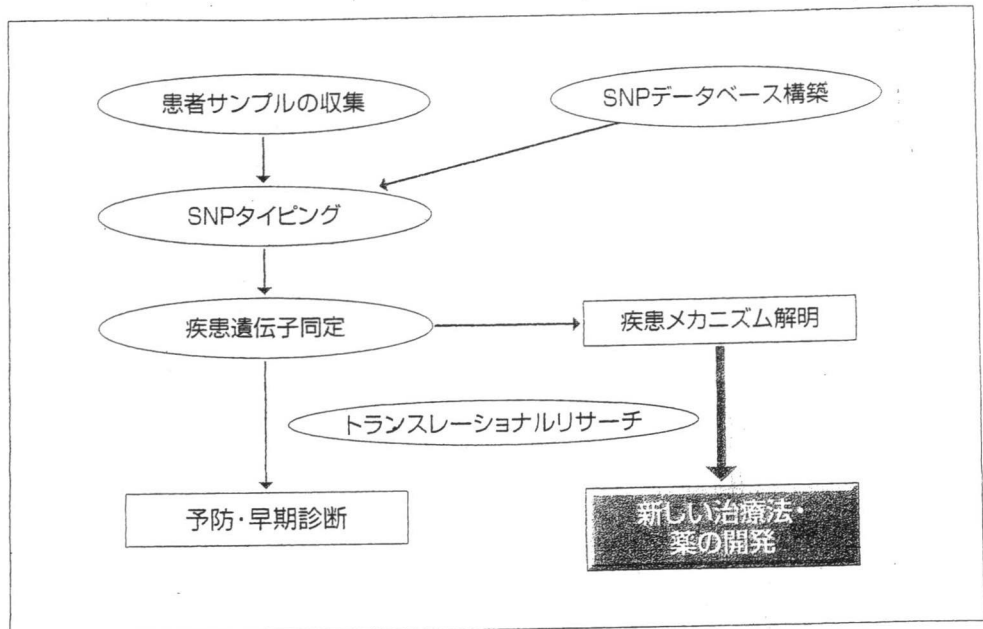


図4 糖尿病遺伝子同定は役に立つのか?どう活かすのか?

III. 遺伝子によるオーダーメイド医療の課題

今までのシーケンサーは100万塩基対/日の配列を決定するのが限界だったが、技術の革新により次世代シーケンサーではその100~1,000倍のパフォーマンスが可能となった。すなわち10年かかって人類が読んだヒトゲノムを約2日で読めることになる。これによりある疾患で変異している塩基を全ゲノム観点で捉えることが可能になった。また低頻度の感受性アリルを同定し、タイピングすることも容易になるであろう。CNV(Copy Number Variant)のようなゲノム構造変異の同定もより簡易になり、SNPだけで説明できない2型糖尿病の遺伝子パズルを解く手助けになるであろう。

ゲノム上に多くの未知の頻度の低い糖尿病感受性アリルが依然存在していることは疑いなく、それを捉えるためにはとにかくより多くの数のサンプルを用いた検出力の高い関連解析が必要になることも疑いない。他に糖尿病標的臓器での遺伝子プロファイリング(トランスクリプトーム)や、相互作用タンパクを網羅するタンパクネットワーク解析など、プロテオーム的アプローチも効率的な糖尿病遺伝子獲得には必要であろう。また、今後

は獲得された遺伝子多型群を同時に解析できるエピスタシス用遺伝統計プログラムが必要となることは明らかであり、さらに環境因子も数量化し遺伝子多型と同時に相互作用を解析できるプログラムの開発が必須になることもまた疑いない。またそのためには食事の質や運動の強度、その他の種々の詳細な環境因子のデータが揃ったコホート研究が要求されてくる。

現在すでに、さまざまな疾患の感受性アリルを有料でタイピングするサービスが出現しつつあり、アメリカでは現在技術の革新的進歩により約400ドルで全ゲノムをスキャンし、約100万個のSNPを調べるといような検査ラボまで出現している。しかし現時点ではこれら検査結果の妥当性や臨床的意義が確立されておらず、さまざまな意味でこの手のサービス販売は時期尚早との声もある。まず、商業ベースの遺伝子マーカーの多くは他の集団での再現性が確認されておらず、また遺伝子の疾患発症における分子学的機序も不明なことが多い。とくにGWASで同定された疾患感受性アリルは、疾患との直接の因果関係が証明されていないものも多い。すなわち集団遺伝学として得られたデータを個人に流用、転用するのは困難である。オッズ比はあくまで集団でのデータであり、

個々の人においてはその遺伝因子の全貌が明らかにならない限り正確な意味をもたないのである。したがって现阶段では、疾患感受性多型同定の意義は発症予測、予防というよりもむしろ疾患発症メカニズム解明の手がかりを与えることであり、こちらは新規治療法の開発並びに創薬への展開にとって重要な意味を持っている(図4)。

【文献】

- Wellcome Trust Case Control Consortium : Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*, 447 : 661-678, 2007
- Sladek R, Rocheleau G, Rung J, et al : A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*, 445 : 881-885, 2007
- Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, et al : Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science*, 316 : 1336-1341, 2007
- Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, et al : A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science*, 316 : 1341-1345, 2007
- Miyake K, Horikawa Y, Hara K, et al : Association of TCF7L2 polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes in 4,087 Japanese subjects. *J Hum Genet*, 53 : 174-180, 2008
- Horikawa Y, Miyake K, Yasuda K, et al : Replication of genome-wide association studies of type 2 diabetes susceptibility in Japan. *J Clin Endocrinol Metab*, 93 : 3136-3141, 2008
- Yasuda K, Miyake K, Horikawa Y, et al : Variants in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet*, 40 : 1092-1097, 2008
- Wacholder S, Chanock S, Garcia-Closas M, et al : Assessing the probability that a positive report is false : an approach for molecular epidemiology studies. *J Natl Cancer Inst*, 96 : 434-442, 2004
- Unoki H, Takahashi A, Kawaguchi T, et al : SNPs in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes in East Asian and European populations. *Nat Genet*, 40 : 1098-1102, 2008
- Müssig K, Staiger H, Machicao F, et al : Association of type 2 diabetes candidate polymorphisms in KCNQ1 with incretin and insulin secretion. *Diabetes*, 58 : 1715-1720, 2009
- Boini KM, Graf D, Hennige AM, et al : Enhanced insulin sensitivity of gene-targeted mice lacking functional KCNQ1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 296 : R1695-1701, 2009
- Du M, Beatty LG, Zhou W, et al : Insulator and silencer sequences in the imprinted region of human chromosome 11p15.5. *Hum Mol Genet*, 12 : 1927-1939, 2003
- Korinek V, Barker N, Moerer P, et al : Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4. *Nat Genet*, 19 : 379-383, 1998
- Fujino T, Asaba H, Kang MJ, et al : Low-density lipoprotein receptor-related protein 5(LRP5) is essential for normal cholesterol metabolism and glucose-induced insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 : 229-234, 2003
- Gustafson B, Smikh U : Cytokines promote Wnt signaling and inflammation and impair the normal differentiation and lipid accumulation in 3T3-L1 preadipocytes. *J Biol Chem*, 281 : 9507-9516, 2006
- Kanazawa A, Tsukada S, Sekine A, et al : Association of the gene encoding wingless-type mammary tumor virus integration-site family member 5B(WNT5B) with type 2 diabetes. *Am J Hum Genet*, 75 : 832-843, 2004
- Lyssenko V, Lupi R, Marchetti P, et al : Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *J Clin Invest*, 117 : 2155-2163, 2007
- Florez JC, Jablonski KA, Bayley N, et al : TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N Engl J Med*, 355 : 241-250, 2006
- Pearson ER, Donnelly LA, Kimber C, et al : Variation in TCF7L2 influences therapeutic response to sulfonylureas : a GoDARTs study. *Diabetes*, 56 : 2178-2182, 2007
- Pilgaard K, Jensen CB, Schou JH, et al : The T allele of rs7903146 TCF7L2 is associated with impaired insulinotropic action of incretin hormones, reduced 24 h profiles of plasma insulin and glucagon, and increased hepatic glucose production in young healthy men. *Diabetologia*, 52 : 1298-1307, 2009
- Shu L, Matveyenko AV, Kerr-Conte J, et al : Decreased TCF7L2 protein levels in type 2 diabetes mellitus correlate with downregulation of GIP- and GLP-1 receptors and impaired beta-cell function. *Hum Mol Genet*, 18 : 2388-2399, 2009
- Ubeda M, Rukstalis JM, Habener JF. Inhibition of cyclin-dependent kinase 5 activity protects pancreatic beta-cells from glucotoxicity. *J Biol Chem*, 281 : 28858-28864, 2006
- Bort R, Martinez-Barbera JP, Beddington RS, et al : HHEX homeobox gene-dependent tissue positioning is required for organogenesis of the ventral pancreas. *Development*, 131 : 797-806, 2004
- Tsutsui T, Hesabi B, Moons DS, et al : Targeted disruption of CDK4 delays cell cycle entry with enhanced p27(Kip1) activity. *Mol Cell Biol*, 19 : 7011-7019, 1999
- Krishnamurthy J, Ramsey MR, Ligon KL, et al : p16INK4a induces an age-dependent decline in islet regenerative potential. *Nature*, 443 : 453-457, 2006
- Nielsen J, Chistiansen J, Lykke-Andersen J, et al : A family of insulin-like growth factor II mRNA-binding proteins represses translation in late development. *Mol Cell Biol*, 19 : 1262-1270, 1999
- Omori S, Tanaka Y, Horikoshi M, et al : Replication study for the association of new meta-analysis-derived risk loci with susceptibility to type 2 diabetes in 6,244 Japanese individuals. *Diabetologia*, 52 : 1554-1560, 2009
- Frayling TM, Colhoun H, Florez JC : A genetic link between type 2 diabetes and prostate cancer. *Diabetologia*, 51 : 1757-1760, 2008
- Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al : A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*, 316 : 889-894, 2007
- Gerken T, Girard CA, Tung YC, et al : The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science*, 318 : 1469-1472, 2007
- Poulsen P, Kyvik KO, Vaag A, et al : Heritability of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance-a population-based twin study.

Review Article II

- Diabetologia*, 42 : 139-145, 1999
- 32) Dolinoy DC, Huang D, Jirtle RL : Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104 : 13056-13061, 2007
- 33) Miyake K, Yang W, Hara K, et al : Construction of a prediction model for type 2 diabetes mellitus in the Japanese population based on 11 genes with strong evidence of the association. *J Hum Genet*, 54 : 236-241, 2009
- 34) Meigs JB, Shrader P, Sullivan LM, et al : Genotype score in addition to common risk factors for prediction of type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 359 : 2208-2219, 2008
- 35) Lyssenko V, Jonsson A, Almgren P, et al : Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 359 : 2220-2232, 2008

オーダーメイド医療の将来

堀川幸男*1, 安田和基*2

(*1 岐阜大学医学部附属病院, *2 国立国際医療センター研究所)

1. オーダーメイド医療実現のための基盤構築

現在の遺伝学では、高頻度にゲノムに存在する単一塩基多型(SNPs)を用いた連鎖不平衡マッピングにより候補遺伝子座を絞り込み、最終的に疾患感受性アリルを同定することが可能となった。2006年に転写因子 *TCF7L2* の多型が新規2型糖尿病感受性遺伝子アリルとして報告され、その後さまざまな人種において2型糖尿病との関連が報告された^{1,2)}。現在では、ゲノム科学や技術の進歩により、10万から50万SNPsを用いてゲノム全域にわたって解析する、いわゆる全ゲノム関連解析(GWAS)が可能になり、*HHEX*, *CDKN2B*, *CDKAL1*, *IGF2BP2*などの領域の糖尿病感受性多型が欧米にて報告された^{3,4)}。上

記の遺伝子の感受性アリルについてはわが国でも糖尿病発症との関連が認められ、人種を超えた糖尿病感受性アリルであることが証明された⁵⁾。同時期、わが国においてもミレニアムプロジェクトのGWASが施行され、*KCNQ1*のイントロン15の多型が日本人2型糖尿病における重要な感受性多型として同定された⁶⁾(表1)。

・ *KCNQ1*

日本における「ミレニアムプロジェクト」の一環として、10万SNPを用いた多段階スクリーニングが行われ、その結果 *KCNQ1* という新しい2型糖尿病遺伝子が得られた。この遺伝子は、韓国人、中国人などの東アジア人や、北欧白人でも強力な2型糖尿病の遺伝因子であることが明らか

表1 GWASで同定された新規糖尿病感受性遺伝子

染色体位置	gene symbol	機能	OR(C/J)	RAF(C/J)
1p12	<i>Notch2</i>	細胞分化調整	1.13/—	0.11/—
2p21	<i>THADA</i>	不明	1.15/—	0.9/—
2q24-q32	<i>G6PC2</i>	G6Paseの活性関連蛋白質	*	0.3(A allele)/—
3p14	<i>ADAMTS9</i>	プロテオグリカンの切断など	1.09/—	0.76/—
3q28	<i>IGF2BP2</i>	IGF2の翻訳制御	1.14/1.23	0.29/0.30
6p22.3	<i>CDKAL1</i>	CDK5の活性化抑制	1.12/1.28	0.31/0.41
7p15	<i>JAZF1</i>	NR2C2の転写抑制	1.1/—	0.5/—
8q24.11	<i>SLC30A8</i>	亜鉛のトランスポート	1.18/1.16	0.65/0.56
9q21	<i>CDKN2B</i>	CDK4,6インヒビター	1.2/1.27	0.83/0.55
10p13-p14	<i>CDC123/ CAMK1D</i>	機能不明/顆粒球機能を調整	1.11/—	0.18/—
10q23-q25	<i>HHEX</i>	Wntシグナルパスウェイ	1.13/1.27	0.53/0.28
10q25.3	<i>TCF7L2</i>	インスリン分泌低下など	1.31-1.71/1.48	0.26/0.038
11p15.5	<i>KCNQ1</i>	ベータ細胞の過分極 電位依存性カリウムチャンネル	1.40/1.49	0.95/0.68
12q21	<i>TSPAN8/LGR5</i>	インテグリンとの複合体形成/ 糖蛋白ホルモン受容体	1.09/—	0.27/—

RAFはコントロールにおけるリスクアリル頻度、Cは欧米人、Jは日本人での報告を示す。—は未報告。

*はAアリル1個につき、空腹時血糖が0.06 mmol/L低下する効果との報告。

になった⁵⁾。KCNQ1は、細胞膜上に存在する電位依存性Kチャネルの一つである、Kv7.1の α サブユニットをコードしており、機能喪失性変異がヒトにおいてQT延長症候群の原因となることが知られていた。KCNQ1遺伝子のSNPは、インスリン分泌障害を介して2型糖尿病のリスクを高めると考えられているが、そのメカニズムは今後の研究課題である。全く独立に行われたプロジェクトでも同様の報告があり⁷⁾、日本人2型糖尿病において、非常に重要な遺伝因子と思われる。

以下コーカシアンのゲノムワイド関連解析(GWAS)で同定された新規糖尿病感受性遺伝子のうち日本人でも関連再現が認められた遺伝子について概説する。

・TCF7L2(transcription factor 7-like 2)

TCF7L2が存在する染色体10qはもともとメキシコ系アメリカ人や、アイスランド人において2型糖尿病との関連が連鎖解析で示唆されていた領域であり、その10.5 Mb領域を詳細に遺伝子型タイピングしたところTCF7L2のイントロン3のDG10S478がアイスランド人で最も強い糖尿病発症関連を示し、この関連はデンマーク人とアメリカ人でも再現された。このDG10S478は92.1 kbにわたる一つの連鎖不平衡(LD)ブロック内に存在していたので、この領域のSNPsが調べられrs7903146をはじめとした幾つかの多型が糖尿病と強い関連を示すことが判明した¹⁾。TCF7L2はTCF7L1とTCF7like HMG boxをもつ転写因子ファミリーを構成しており、WNT(wingless-type MMTV integration site family)シグナルパスウェイに属する転写因子であることが知られている。膵 β 細胞においては、その分化・増殖・アポトーシス・インスリン分泌などを直接制御すると考えられている。その後の各国の施設から報告された関連解析(GWASを含む)でほぼすべて2型糖尿病発症との関連が示されており、現在2型糖尿病の感受性遺伝子として最も注目されている。

最近の報告でTCF7L2 rs7903146のリスクアレルとインスリンの分泌低下、インクレチン効果

の低下、糖新生の亢進、TCF7L2の発現レベルに有意な相関が認められた。また糖尿病の患者の膵島ではTCF7L2が約5倍発現しており、TCF7L2のヒト膵島での過剰発現がブドウ糖反応性のインスリン分泌を抑制することもわかった⁸⁾。さらにこのTCF7L2のリスク多型はDPP(Diabetes Prevention Program)に参加しているIGT患者の糖尿病への進展にインスリン分泌不全を介して関与しており、生活習慣への介入の方がメトフォルミンより糖尿病発症軽減効果があることも示された⁹⁾。一方発症後の糖尿病患者については、TCF7L2のリスクアレルのホモキャリアでは、治療薬のなかでSU剤の効果が弱い可能性を示す報告があり、薬剤選択に役立つ可能性がある¹⁰⁾。TCF7L2の糖尿病感受性アレルがこの遺伝子の発現レベルをどういう機構で変化させるのか、また真の感受性アレルが本遺伝子領域外にありうるのかなど依然不明な部分があるにせよ、これだけ人種を超えて強い相関が認められた遺伝子は現在までなく、この感受性アレルのオーダーメイド医療への展開が今後期待される。

・CDKAL1(CDK 5 regulatory subunit associated protein 1-like 1)

この遺伝子の機能は現在のところ明らかではないが、 β 細胞に高発現し β 細胞の機能の維持に必要と考えられているCDK5の活性化を抑制することが知られている。p35-CDK5複合体がインスリンの発現を抑制することが知られているが、リスクアレルが健常者でインスリン分泌を低下させる成績が報告されている。

・HHEX(Hematopoietically expressed homeobox)

HHEXは肝臓と膵臓の発達に不可欠の転写因子で、Wntシグナルパスウェイに関係し、TCF7L2の標的遺伝子の一つである。WNTシグナルのon-offが肝臓、膵臓の分化には重要であることが知られており¹¹⁾、HHEXも腸管からの膵初期発生に関与するとされる。リスクアレルが健常者でインスリン分泌を低下させる成績が報告されている。この候補領域は295 kbにまたがっており、ほかにKIF11やIDEが含まれ、責任遺伝子の確定も含め今後の詳細な検討が引き続き

き必要である。

- *CDKN2B* (Cyclin dependent kinase inhibitor 2 B)

CDKN2B は *CDKN2A* と並んで染色体9番の短腕に位置しているサイクリン依存性キナーゼ (CDK4,6) インヒビターで、膵島、脂肪細胞、小腸、大腸に発現している¹²⁾。また、腫瘍抑制遺伝子でもあり、エイジングにも重要な役割を果たしている可能性がいわれている。しかし感受性アリルは *CDKN2B* の3'端から120 kbも離れており、他の未知遺伝子あるいは本遺伝子の未知の制御エレメントにあるのかもしれない。なお *CDKN2A* 過剰発現が老化マウスで膵島の再生を抑制することは興味深い¹³⁾。

- *IGF2BP2* (Insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 2 or IMP 2)

IGF2BP2 は *IGF2* mRNA の5' UTR に結合し *IGF2* の翻訳を制御する。*IGF2* は発達、成長、インスリン作用刺激にかかわっているインスリン様成長因子である¹⁴⁾。

- *FTO* (Fat mass- and obesity-associated gene)

このほか、やはり糖尿病の遺伝素因として報告された遺伝子に、機能不明だった *FTO* があるが、その後の検討によりこの遺伝子はむしろ肥満の遺伝素因であること、DNA 脱メチル化酵素活性をもち、エピジェネティックな制御に関与する可能性があることが報告された^{15,16)}。

その後、白人ではより大規模な人数の GWAS¹⁷⁾ にて新たな遺伝子の多型に糖尿病との関連が認められており簡単に解説する。これらに関しても筆者らは解析を進めており一部の遺伝子で日本人でも関連を認めている。

- *JAZF1* (Juxtaposed with another zinc finger gene 1)

JAZF1 は7p15.2-p15.1に位置し、C2H2タイプのZnフィンガーを3個有する核内蛋白をコードしており、核内受容体である *NR2C2* の転写を抑制する。*NR2c2* のノックアウトマウスでは成長遅延、低血糖、PEPCK活性の低下による糖新生の低下が認められている。*JAZF1* は膵臓で発現しており、変異によりβ細胞量や機能に影響

する可能性が考えられる。また前立腺癌のゲノムワイド関連解析により、イントロン2のSNP (rs10486567) で関連性が報告されている。

- *CDC123* (cell division cycle 123 homolog) / *CAMK1D*

CDC123 はヒトでの機能はよくわかっていないが、yeastでは細胞周期の調整や栄養状態のコントロールにかかわると報告されている。*CAMK1D* (calcium/calmodulin-dependent protein kinase I delta) はアポトーシスの増減を通じて、β細胞の機能に影響する可能性が考えられている。

- *TSPAN8* (tetraspanin 8) / *LGR5*

TSPAN8 は、インテグリンと複合体を形成する糖蛋白をコードし、細胞表面に広く発現している。 $\alpha 6$ インテグリンはラミンと結合して、β細胞量の維持に悪影響を及ぼすと報告されているので、この遺伝子の変異はアポトーシスの増加により、β細胞量に影響する可能性が考えられる。*LGR5* (leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5) は12q15-q23に位置し、TSH (thyroid stimulating hormone) などに代表される糖蛋白ホルモンの受容体をコードするが、リガンドは不明である。

- *THADA* (thyroid adenoma associated)

THADA は2p21に位置し、甲状腺腺腫の10%で転座がみられる領域に位置する。糖尿病の病態との関係は不明である。

- *ADAMTS9* (a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 9)

ADAMTS9 はADAMTSファミリーに属する蛋白をコードする。ADAMTSファミリーはプロテオグリカンの切断、臓器の形態形成のコントロール、血管新生の抑制に関係するとされる。

- *NOTCH2* (notch, drosophila, homolog of 2)

NOTCH2 は、細胞の分化をコントロールするNOTCHファミリーに属し、腎臓、肝臓の発達において機能するとされている。

- *G6PC2* (glucose-6-phosphatase, catalytic, 2)

G6PC2 は2q24-q32に位置し、IGRP (islet-specific glucose-6-phosphatase catalytic subunit-related protein) としても知られるグル

コース-6-脱リン酸酵素の触媒サブユニット関連蛋白質をコードしており、この蛋白質は膵島に選択的に発現している。 β 細胞でグルコース刺激によるインスリン分泌のセットポイントを調節することによって空腹時血糖を制御していると推測している¹⁸⁾。

II. GWAS にて現在までに判明したことのまとめ

最近のGWASからわかったことは、まずわれわれの予想に違わず2型糖尿病はヘテロな疾患であり、当初の予想よりもさらに多くの感受性遺伝子が存在することである。しかもそれぞれの効果(オッズ比)・浸透率は弱く、「主働遺伝子」は見当たらない。コーカシアンでいえば、同定された15遺伝子の30個の危険アレルのうち、人口の99%が9個以上のいずれかの遺伝子の危険アレルを所有しているにもかかわらず、たったの8~10%しか糖尿病にならない。それは裏を返せば、高血糖発症には環境因子が重要ということである。いわゆる生活習慣のほか、たとえば母体肥満、子宮内環境、栄養素、腸内細菌叢などの環境因子などは効果は小さいながらも環境刺激への代謝応答の発達とプログラミングに影響を与えることは間違いない。実際、出生時低体重の糖尿病発症に与えるリスクは現在までもっとも大きい遺伝リスクをもつ *TCF7L2* の感受性アレルのリスクとほぼ同じであることを肝に銘じるべきである¹⁹⁾。また出生時低体重をきたす子宮内環境の影響などは世代を超えて受け継がれることから、こうしたエピジェネティックな要素も考慮すべきである。

われわれはこれまで、CDCV (common disease common variant) の仮説をたてて2型糖尿病遺伝子同定を進めてきたが、低頻度で高浸透率の2型糖尿病の感受性アレルがあるとすると、高頻度アレルに主目をおいた現在のGWASの方法論では捉えられないことにも注意すべきである。こうした頻度の低い糖尿病感受性アレルを捉えるためには、より多くの数のサンプルを用いた検出力の高い関連解析や、後述する次世代シーケンスシステムを用いたゲノムリシーケンスなどの他の

方法論が必要になることも疑いない。

また、GWASでこれまで同定された感受性SNPは、ある遺伝子のイントロンに存在することが多いが、その遺伝子が真の疾患感受性遺伝子かどうかは断定できない。なぜなら、だいたいの感受性アレルの存在する連鎖不平衡ブロックの中には複数の遺伝子が存在すること、しかもゲノム上で遺伝子 *cis*-調節領域の約半分は標的遺伝子から1 Mb程度はなれていることもあることから、イントロンの感受性アレルが、その遺伝子でなく、近隣遺伝子の発現を制御している可能性すらあるからである²⁰⁾。今後はまず現在までに同定された感受性ローカスを、組換えが多く、連鎖不平衡領域が短いアフリカ系サンプルのデータを参考にしながら詳細にマッピングすることや、南アジア、メキシコ系アメリカ人、ピマインディアンなど糖尿病の頻度が非常に高いエリアでのこれら感受性遺伝子アレルの検定が必要であろう。

疾患予測については、いままでGWASで同定されてきた感受性アレルは10~20%の発症リスク増加しか認められていない。最も効果の強い *TCF7L2* のリスクアレルを二つもっていても、たった2倍になるだけである。現在までにコーカシアンで同定された15個の2型糖尿病感受性遺伝子を考えてみても97%の人は9~20個のリスクアレルをもっていて、この一つ一つの遺伝子効果を相加効果と考えると20個以上もっている1.5%の人の糖尿病発症増加効果は9個以下の1.5%の人の6倍程度になり、発症予測確率も7%から17%と約10%程度は上がる²¹⁾。しかしリスクアレルを15~17個くらいもつ最も人数の多い人たちにとってはたったの3%増加するだけであり予測効果には疑問が残るが、われわれの試算でも日本人で同様の成績が得られている(図1)。また別の18個の糖尿病感受性アレルを用いた研究では、糖尿病は年齢、BMI、性で78%の確からしきで決定できるが、そこに遺伝子アレルを足してもその確からしきが80%になるだけだと報告されている²²⁾。またごく最近、白人のコホートをを用いた検討により、10~18の遺伝因子(*KCNQ1*は含まれない)を用いた「遺伝的スコア」では、従来の危険因子(肥満、家族歴など)に比べて糖尿病の発症

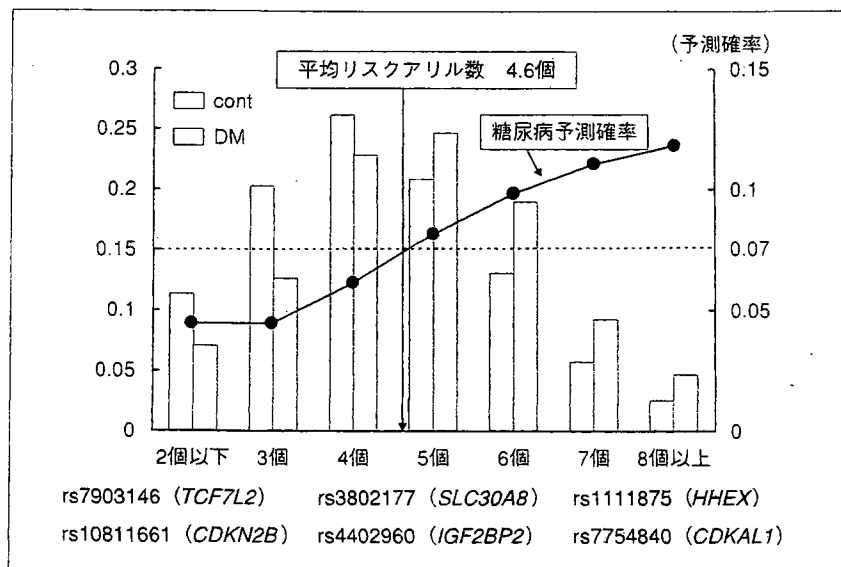


図1 リスクアレル数と糖尿病予測確率

予測における有用性はごくわずかであったという報告もなされた^{23,24)}。今後は遺伝子-遺伝子、遺伝子-環境相互作用解析が重要であり、食事の質や運動の程度、他の種々の環境因子のデータが揃ったコホート研究が要求されてくる。

III. オーダーメイド医療の実用に向けて期待される新技術

A. 高感度マイクロアレイ²⁵⁾

同時に多数の遺伝子の変動を解析できるDNAマイクロアレイは、基礎研究から臨床研究まで強力なリサーチツールとして用いられており、発現解析、配列解析、多型解析、コピー数解析、エピジェネティクスとさまざまな解析に不可欠で、今後個別化医療の分野でも有力なツールとして期待されている。近年このマイクロアレイの検出感度や信頼性を高める高感度マイクロアレイ技術がいくつか開発されている。さらに、今後疾患メカニズムへの関与や治療への応用が期待されるmicro-RNAに対しても、従来のDNAマイクロアレイでは解析困難であったが、高感度マイクロアレイは優れた検出性能を有することが報告されている。

B. 電流検出型DNAチップ²⁶⁾

現在DNAチップのほとんどが蛍光標識を利用

しているが、東芝から開発された電流検出型とよばれるDNAチップでは、標識色素や光学検出を必要としないため、低コスト、検査時間の短縮化が可能で、医療現場への応用が期待されている。特に、有用性が確かめられた、限られた数の特定のSNPを迅速にタイピングすることを目的とした、C型肝炎のインターフェロン治療効果の予測、子宮頸癌との関連性が高いヒトパピローウイルスの検出、抗リウマチ薬の副作用予測などの試験が実用化に向けて行われている。

C. 次世代シーケンスシステム²⁷⁾

今までのシーケンサーは100万塩基対/日、配列を決定するのが限界であったが、技術の革新により次世代シーケンサーではその100・1,000倍のパフォーマンスが可能となった。すわち約2日で全ゲノムが読めることになる。区に革新的シーケンス技術を簡単に紹介する。これによりある疾患で変異している塩基を全ゲノム視点で捉えることが可能になった。また低頻度感受性アレルを同定し、タイピングすることも易くなるであろう。CNV(Copy Number Variant)のようなゲノム構造変異の同定もより簡易なり、SNPだけで説明できない2型糖尿病の伝子パズルを解く手助けになるであろう。

しかし今後は安価にこれら全ゲノムのデータ

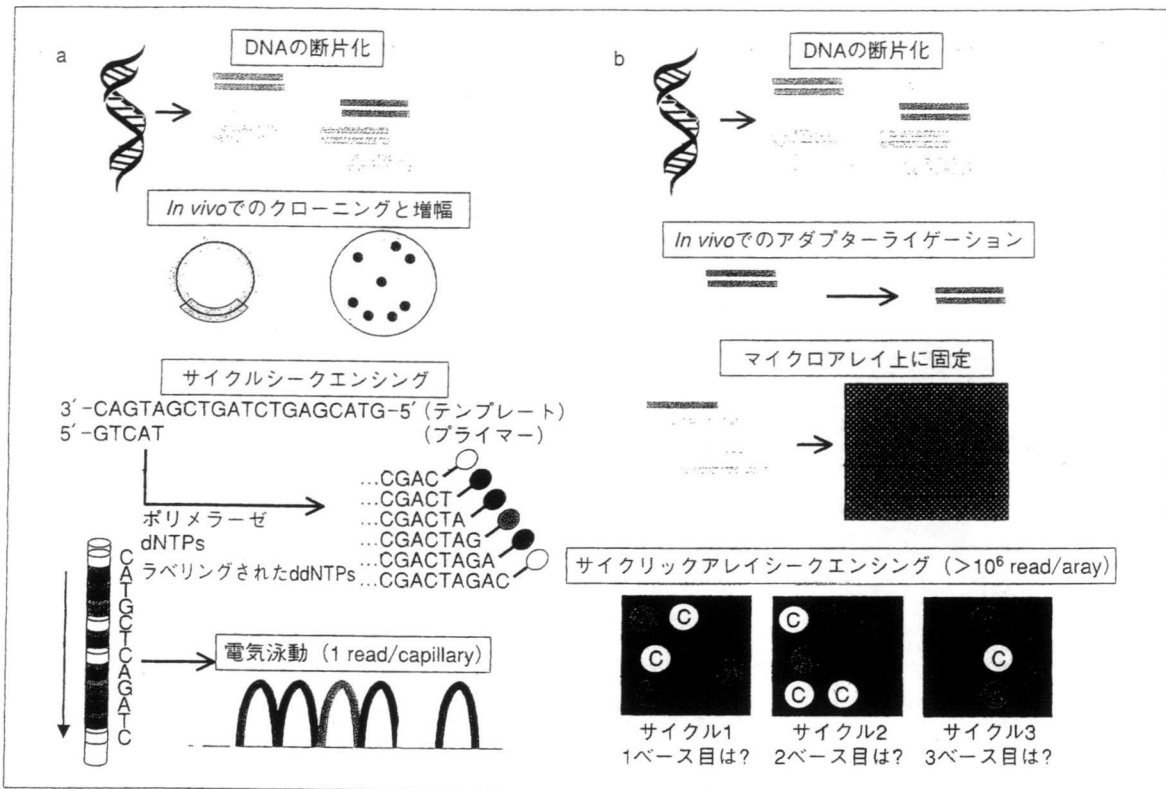


図2 従来のサンガー法によるシーケンス(a)と次世代シーケンス(b)のワークフロー(文献 20)より引用改変)

得られれば、多くの人々が遺伝情報を所有することになるので、個人情報管理などのシステムに関しても早急に立ち上げなくてはならないであろう。

IV. 現在までのオーダーメイド応用例と課題

A. MammaPrint® と Oncotype Dx™

乳癌においては、DNA マイクロアレイを用いて実際に個別化医療を行うためのシステムが実用化されつつあるので紹介する。

2007年2月に、最初のマイクロアレイ体外診断法として、MammaPrint® がFDAにより認可された。MammaPrint® は凍結標本を用いて、70 遺伝子(cyclin E2 や MCM6 など細胞周期に関与するもの、MMP9 など浸潤と転移に関係するもの、ESM1 や VEGF 受容体 FLT1 など血管新生に関係するもの)を DNA マイクロアレイで解析する。ER(エストロゲン受容体)の発現状態に関係なく予後の評価を行う。Oncotype Dx™

はパラフィン包埋組織を用い、21 個の遺伝子(16 個の癌関連遺伝子と 5 個の参照遺伝子)発現をリアルタイム RT-PCR 法で測定する。ER 陽性、リンパ節転移陰性、タモキシフェン治療を受けた乳癌症例が対象で、化学療法の必要性の判断に有益な情報が得られる。

B. ファーマコゲノミクスを用いた個別化医療

薬効にはしばしば個人差がみられるが、その遺伝的要因を明らかにしようとするのが、ファーマコゲノミクスの概念である。最も有名なのは CYP(チトクロム P450)の遺伝子多型であり、海外ではすでにいくつかの疾患で臨床的に応用されつつある。糖尿病においても近年、メトフォルミンと OCT1(organic cation transporter 1)との関係が報告されている。OCT1 は肝臓特異的に発現する有機カチオントランスポーターで、メトフォルミンは OCT1 により肝臓へ取り込まれる。機能低下を示す OCT1 の多型を有する人では、

メトフォルミンの作用が低かったとの報告があり、今後さらにデータが蓄積されれば、実際の治療への応用が期待される²⁸⁾。

C. 遺伝子によるオーダーメイド医療の課題

現在すでに、さまざまな疾患の感受性アレルを有料でタイピングするサービスが出現しつつあり、アメリカでは現在技術の革新的進歩により約400ドルで全ゲノムをスキャンし、約100万個のSNPを調べるといような検査ラボまで出現している。しかし現時点ではこれら検査結果の妥当性や臨床的意義が確立されておらず、さまざまな意味でこの手のサービス販売は時期尚早との声もある。まず、商業ベースの遺伝子マーカーの多くは他の集団での再現性が確認されておらず、また遺伝子の疾患発症における分子学的機序も不明なことが多い。特にGWASで同定された疾患感受性アレルは、疾患との直接の因果関係が証明されていないものも多い。

次に、古典的な遺伝病と異なり、それぞれのアレルによる発症リスク上昇は小さく、診断的な意義を過大評価してはならない。たとえば乳癌に関連している*FGFR2*のリスクアレル保因者のリスク上昇は1.2倍程度であり、これは35歳以降に最初の妊娠を経験する女性のそれと同等である。実際先に述べたように、糖尿病においてもGWASで得られた遺伝因子はオッズ比・浸透率ともに低い。さらに、一番問題なのは、遺伝子多型解析結果の解釈が不確実な上に、特に有効な予防法や臨床的介入がない場合は、受診者に不安や悩みを与えるだけとなりむしろ精神的負担が大きくなるといわれている。たとえばリスク予測がむずかしい乳癌の*BRCA*遺伝子ミスセンス変異の保因者とわかった女性、認知症や神経変性疾患のリスクアレルの保持者とわかった若年者などがこれに当たるが、糖尿病や心血管疾患についても、遺伝子検査の結果から発症リスクが若干高いと判定された患者に対して医師がとるべき対応にもまだコンセンサスがなく、就職や保険加入において差別されないような体制づくりも重要であろう。

これらの疑問に答えるためにMULTIPLEX INITIATIVEという研究が計画されている。こ

れは25~40歳の健康な成人に8種類の頻度の高い疾患(2型糖尿病, 心疾患, 脂質異常症, 高血圧症, 骨粗鬆症, 肺癌, 大腸癌, 皮膚癌)に関連する遺伝子多型をスクリーニングするものであり、遺伝子テストとその疾患予防への効果が判定されるため、その結果が待たれるところである²⁹⁾。

おわりに

オーダーメイド医療の実現のためには、日本人について遺伝因子をより網羅的に同定するとともに、発症予測や治療方針選択に寄与するそれぞれの妥当性について検証を行い、科学的根拠を集積する必要がある。2型糖尿病は、GWASによる成果も他の疾患に比べて充実しており、生活習慣病のモデルケースとして研究が進み、臨床応用が近い将来実現されることが期待される。

文献

- 1) Grant SFA et al: Variant of transcription factor 7-like 2 (*TCF7L2*) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nat Genet* 2006, 38: 320-323.
- 2) Miyake K et al: Association of *TCF7L2* polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes in 4087 Japanese subjects. *J Hum Genet* 2007, 53: 174-180.
- 3) Sladek R et al: A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* 2007, 445: 881-885.
- 4) Zeggini E et al: Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science* 2007, 316: 1336-1341.
- 5) Horikawa Y et al: Replication of genome-wide association studies of type 2 diabetes susceptibility in Japan. *J Clin Endocrinol Metab* 2008, 93: 3136-3141.
- 6) Yasuda K et al: Variants in *KCNQ1* are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* 2008, 40: 1092-1097.
- 7) Unoki H et al: SNPs in *KCNQ1* are associated with susceptibility to type 2 diabetes in East Asian and European populations. *Nat Genet* 2008, 40: 1098-1102.
- 8) Lyssenko V et al: Mechanisms by which common variants in the *TCF7L2* gene increase risk of type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2007, 117: 2155-2163.
- 9) Florez JC et al: *TCF7L2* polymorphisms and

- progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N Engl J Med* 2006, 355 : 241-250.
- 10) Pearson ER et al : Variation in *TCF7L2* influences therapeutic response to sulfonylureas, A GoDARTs study. *Diabetes* 2007, 56 : 2178-2182.
 - 11) Bort R et al : HHEX homeobox gene-dependent tissue positioning is required for organogenesis of the ventral pancreas. *Development* 2004, 131 : 797-806.
 - 12) Tsutsui T et al : Targeted disruption of CDK4 delays cell cycle entry with enhanced p27 (Kip1) activity. *Mol Cell Biol* 1999, 19 : 7011-7019.
 - 13) Krishnamurthy J et al : p16INK4a induces an age-dependent decline in islet regenerative potential. *Nature* 2006, 443 : 453-457.
 - 14) Nielsen J et al : A family of insulin-like growth factor II mRNA-binding proteins represses translation in late development. *Mol Cell Biol* 1999, 19 : 1262-1270.
 - 15) Frayling TM et al : A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* 2007, 316 : 889-894.
 - 16) Gerken T et al : The obesity-associated *FTO* gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science* 2007, 318 : 1469-1472.
 - 17) Zeggini E et al : Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes. *Nat Genet* 2008, 40 : 638-645.
 - 18) Bouatia-Naji N et al : A polymorphism within the *G6PC2* gene is associated with fasting plasma glucose levels. *Science* 2008, 320 : 1085-1088.
 - 19) Poulsen P et al : Heritability of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance—a population-based twin study. *Diabetologia* 1999, 42 : 139-145.
 - 20) Vavouri T et al : Defining a genomic radius for long-range enhancer action : duplicated conserved non-coding elements hold the key. *Trends Genet* 2006, 22 : 5-10.
 - 21) Doria A et al : The emerging genetic architecture of type 2 diabetes. *Cell Metab* 2008, 8 : 186-200.
 - 22) Lango H et al : Assessing the combined impact of 18 common genetic variants of modest effect sizes on type 2 diabetes risk. *Diabetes* 2008, 57 : 3129-3135.
 - 23) Meigs JB et al : Genotype score in addition to common risk factors for prediction of type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008, 359 : 2208-2219.
 - 24) Lyssenko V et al : Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008, 359 : 2220-2232.
 - 25) Nagino K et al : Ultrasensitive DNA chip : gene expression profile analysis without RNA amplification. *J Biochem* 2006, 139 : 693-703.
 - 26) Drummond TG et al : Electrochemical DNA sensors. *Nat Biotechnol* 2003, 21 : 1192-1199.
 - 27) Shendure J et al : Next-generation DNA sequencing. *Nat Biotechnol* 2008, 26 : 1135-1145.
 - 28) Shu Y et al : Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT 1) on metformin action. *J Clin Invest* 2007, 117 : 1422-1431.
 - 29) McBride CM et al : Putting science over supposition in the arena of personalized genomics. *Nat Genet* 2008, 40 : 939-942.

ビグアナイドとチアゾ リジンの使い分け

Q

ビグアナイド薬(メトホルミン)と、チアゾリジン誘導体(ピオグリタゾン)の使い分けについて。

(愛知県 S)

2型糖尿病は慢性高血糖による代謝疾患であり、持続的なインスリ

ン作用の不足に起因する。その背景として膵β細胞からのインスリン分泌不全と末梢でのインスリン抵抗性があり、種々の度合いで病態に関与する。欧米人では著明な肥満によるインスリン抵抗性が要因であり、初期段階では代償性の高インスリンが先行する。一方、日本人においては比較的やせ型であり、初期からインスリン分泌不全を主体とし、抵抗性は軽度である。したがって、インスリン分泌促進薬のみならず、抵抗性の改善薬も病態(体質による一次性の抵抗性素因と慢性高血糖や生活等による二次的素因)を考慮した選択が望まれる。

抵抗性改善薬はビグアナイド薬(BG)とチアゾリジン誘導体(TZD)が使用できる¹⁾²⁾。BGではメトホルミンとブホルミンの2剤があるが、前者が汎用されている。日本での限量量は750mgに設定されているが、高用量も検討されている。BGとTZDの主な薬理作用として、末梢での糖取り込みの亢進と肝の糖新生の抑制があるが、BGは糖新生の抑制が優

れている。両薬剤は大血管障害の抑制効果もあるとされる。2型糖尿病では空腹時のみならず、食後においてもグルカゴン作用が亢進しているため、肝の糖放出は食後の血糖管理においても重要な治療ターゲットである。

一方、TZDはピオグリタゾンが使用され、筋などの末梢組織での作用はBGよりも優位である。基本的に食事療法と運動療法による効果が不十分な場合に両薬剤は使用されるが、身体所見や採血検査による抵抗性の存在の確認が望ましい。空腹時採血によるインスリン抵抗性指数(HOMA-IR・FBS×IRI/405)を評価

することは有意義であり(正常1・6未満、抵抗性2・5超)、スルホニル尿素(SU)薬を使用している場合でも空腹時血糖が150mg/dlぐらいまでなら算定できる。インスリン治療などIRIが測定できない場合は、C-ペプチドが代用される(空腹時CPR2超を抵抗性の目安としている)。TZDはHOMA-IRが4以上で、代償性のインスリン分泌能を保持

する欧米型で有効であり、一方のBGは幅広いHOMA-IR値で有効であり、日本人型の軽度抵抗性に適している³⁾。

筆者らのグリニド薬との併用による比較成績でも、早期からの使用ではBGにおいてインスリン分泌のより良い改善が認められている。一方、TZDは空腹時インスリン値が高く内臓脂肪の多い症例でより有効であり、アディポネクチンの改善度もBGより有意に高かった。

BGには食欲の抑制効果があるので体重増を起ささない長所があるが、副作用として消化器症状(悪心、下痢など)を生じる場合がある。重篤な副作用としては、教科書的に乳酸アシドーシスが知られるが、腎や肝機能が正常であればきわめて稀であり、実際は比較的安全に使用できる薬剤である。脂肪肝を有する抵抗性では脂質レベルでもむしろ改善が望める。一方、TZDは体重が増える症例が少なくないので、食欲亢進の観点から食事指導を厳重に実施することが大事である。また、女性では浮腫

を生じることが少なくなり、水とNa貯留に関しては心疾患には慎重になるべきであろう。

欧米ではBGが第一選択とされているが、日本人で通常見られる軽度の抵抗性でも有効であることから、日本でも筆者らはBGを第一選択としている。臨床現場では、高血糖やインスリン使用によってHOMARを算定することが困難な場合が少なくない。したがって、筆者らはBG投与を先行させ、抵抗性の改善が十分でない場合に少量のTZD(7.5~15mg程度)の追加を行っている。少量併用の利点は、作用の増強に加えて副作用の分散が望めることである。すなわち、TZDによる体重増やむくみの頻度が有意に少なくなるという報告⁴⁾がある。BGに少量のTZDの併用は廉価であり、医療経済においてもメリットがある。

文献

- 1) 梶野谷洋子：糖尿病学 基礎と臨床、西村書店、門脇 孝也編、東京、2007、p955.
- 2) 長坂昌一郎：糖尿病学 基礎と臨床、西村書店、門脇 孝也編、東京、2007、p949.

- 3) Nagasaka S, et al : Diabet Med 21 : 136, 2004.
- 4) Kawai T, et al : Intern Med 47 : 1181, 2008.

◆◆回答◆◆

岐阜大学大学院医学系研究科内分
泌代謝病態学 *准教授 **教授

*堀川幸男 **武田 純

ポストGWASの新規糖尿病感受性遺伝子同定戦略

Strategy to find novel type 2 diabetes susceptibility genes in the post genome-wide association study era



堀川幸男(写真) 塩谷真由美

Yukio HORIKAWA and Mayumi ENYA

岐阜大学大学院医学系研究科内分泌代謝病態学

◎現在の急速な糖尿病患者の増加には脂肪過量摂取、運動不足、ストレスなどのいわゆる生活習慣とともに、母体肥満、子宮内環境などの生前の環境因子も何らかの形で記憶され、生後の糖尿病や肥満症の易発症性を規定していると考えられている。これら環境変化の遺伝子への取込みの仕組みとして、塩基配列の変化を伴わないメチル化など可逆性のエピジェネティックな遺伝子発現制御機構が想定されている。全ゲノム関連解析(GWAS)により *TCF7L2*, *HHEX*, *CDKN2B*, *CDKAL1*, *IGF2BP2*, *KCNQ1* などの遺伝子領域の多型で糖尿病発症との関連が認められ、人種を超えた糖尿病感受性アリルであることが証明された。しかし、従来の糖尿病危険因子(肥満、家族歴など)に比べて、遺伝子多型の糖尿病発症予測への貢献度はいぜん低いという報告もなされた。したがって、今後のありふれた生活習慣病の遺伝素因解明は、配列変異(SNPs)のみならず、とにもあるエピゲノム変化も含めて解析を進めていかねばならないと考えられる。



GWAS, エピゲノム, SNP, 環境素因

設備的にも費用的にも全ゲノム関連解析(GWAS)が可能になり、*TCF7L2*, *HHEX*, *CDKN2B*, *CDKAL1*, *IGF2BP2*, *KCNQ1* などの遺伝子領域の多型で糖尿病発症との関連が認められ、人種を超えた糖尿病感受性アリルであることが証明された¹⁻³⁾。しかし、従来の糖尿病発症危険因子(肥満、家族歴など)に比べて、上記を含むいくつかの遺伝子多型の発症予測における有用性は現時点では低いという報告もなされた⁴⁾。今後も糖尿病感受性遺伝子アリルは増えるであろうが、関連解析で獲得できた発症オッズ比(易発症度)はあくまで集団でのデータであり、個々人においてはその遺伝素因の全貌が明らかにならないかぎり、正確な発症予測には活用できないことに注意すべきである。したがって、現段階では糖尿病をはじめとする疾患感受性アリル同定の意義は発症予測というよりも、むしろ疾患発症メカニズム解明への分子手がかりを与えることであり、これは新規治療法の開

発ならびに創薬への展開にとって重要な役割を担っている。

ポストGWAS

GWAS からわかったことは、予想に違わず2型糖尿病は異質性疾患であり、当初の予想よりも多くの感受性遺伝子が存在することであった。しかもそれぞれの効果(オッズ比)・浸透率は弱く、“主働遺伝子”はみあたらないことであった。日本人では、現在まで同定された全危険アリルの2/3以上個をもつヒトで、発症予測確率(事後確率)が7%から約12%に上がるのみである。*KCNQ1*, *TCF7L2*, *CDKAL1*, *CDKN2A/B*, *IGF2BP2*, *SLC30A8*, *HHEX*, *GCKR*, *HNF1B*, *KCNJ11*, *PPARG* の糖尿病感受性アリルを用いた日本人の成績では、糖尿病発症は代表的な3つの臨床形質である年齢、BMI、性で68%の確実性で決定できるが、そこに上記の遺伝素因を足しても、その確

率が72%に上がるのみであった。現時点で同定されている遺伝素因の情報は、現実にはそれほど糖尿病発症予測に貢献できないということである。

現在の急速な糖尿病患者の増加には、脂肪過量摂取、運動不足、ストレスなどのいわゆる生活習慣だけでなく、母体肥満、子宮内環境などの生前の環境因子が、生後の環境刺激への代謝応答の発達とプログラミングに影響を与えていることは間違いない⁵⁾。実際、出生時低体重の糖尿病発症に与えるリスクは、現在までもっとも大きい遺伝リスクをもつ *TCF7L2* の感受性アレルのリスクとほぼ同じであることは注目に値する。

胎児期の栄養環境を含めた子宮内環境が何らかの形で記憶され、生後の糖尿病や肥満症の易発症性を規定すると考えられているが、この記憶の仕組みとして、遺伝子の塩基配列の変化を伴わないメチル化などエピジェネティックな遺伝子発現制御機構が考えられている。DNAのメチル化は、生殖細胞では一度リセットされると考えられていた一方、体細胞では個体発生の時期や癌形成の過程を除いて一生変化することはないといわれてきたが、最近では一部のメチル化は減数分裂でも保たれるとの報告や、生活環境因子によるDNAメチル化状態の変化も報告されている。メチオニン、葉酸、ビタミンB₁₂などの栄養素が胎児期のみならず、成長期にDNA、ヒストンのメチル化に影響を与えていると考えられているのである⁶⁾。エピジェネティックな変化はシトシン-グアニン塩基(CpG)のメチル化と、メチル化、アセチル化、リン酸化、SUMO化、ユビキチン化など広範囲なヒストン修飾により起こる。ヒトの体のほとんどすべての細胞が同じジェノタイプをもつが、それぞれの細胞が非常に異なる表現型を有するのはある程度エピゲノムの相違に由来するのである⁷⁾。また、エピジェネティクスの可逆性の性質は、固定されたゲノム配列に由来すると思われていた疾患の治療や予防にあらたな光明を与えた。

最近では、エピジェネティックな変化が体細胞分裂を通して引き継がれることはよく知られており、細胞分化の重要な要素とされている。細胞分裂によりエピゲノムが受け継がれる仕組みは、DNAメチル基転移酵素(DNMTs)とヒストン脱ア

セチル化酵素(HDACs)の研究により徐々に明らかになりつつある。一方、減数分裂においてエピジェネティックな変化は消滅するとこれまで考えられてきたが、世代を超えるかどうかについても引き続き研究されている。最近の研究では、減数分裂を超えて引き継がれるマイクロRNA(miRNA)が接合体内でエピゲノム状態を回復させることが示唆されている⁸⁾。

エピゲノムはDNA配列の変異よりもずっと短いタイムスケールで環境要因に反応して起こるので、ある環境要因の影響が生物の寿命を超えて、おそらくは数世代にわたり続く潜在的なメカニズムの説明になる。エピゲノムの役割には、選択的遺伝子発現、染色体の安定化、X染色体の不活化、ゲノムの刷り込み(imprinting)などの遺伝情報制御が知られているが(図1)、ここでは既知の糖代謝関連遺伝子との関係について、2, 3例をあげて解説する。

糖代謝関連遺伝子のエピジェネティクス

現在の急速な糖尿病患者の増加にかかわっている生前の環境因子である子宮内環境であるが、子宮内発育不全(IUGR)がエピジェネティックサイクルを引き起こし、mSin3A/HDAC複合体が*Pdx1*プロモーターに最初に誘導され、膵分化の重要な転写因子である*Pdx1*転写が抑制されることが示された。生後、H3K9me2が徐々に蓄積するにつれて、DNMT3Aがプロモーターに誘導され、新規DNAメチル化が生じ、成体膵で固定され、その結果、糖尿病を発症することが報告された。しかし、新生仔期において、このエピジェネティックな過程は可逆性で、治療における重要な標的となることも明らかとなり、今後の展開が注目されている⁹⁾。

また、エネルギー恒常性にかかわるエピジェネティック因子として、サーチュイン(sirtuin)がある。低カロリー摂取によりインスリン分泌を抑え気味にすると、インスリンシグナルがフル稼働せず、長寿に結びつくが、このシグナル伝達を調節する因子として注目されているのが“長寿遺伝子”Sirt1である。ファミリー分子の最初のメンバーである酵母Sir2はヒストン脱アセチル化酵素とし

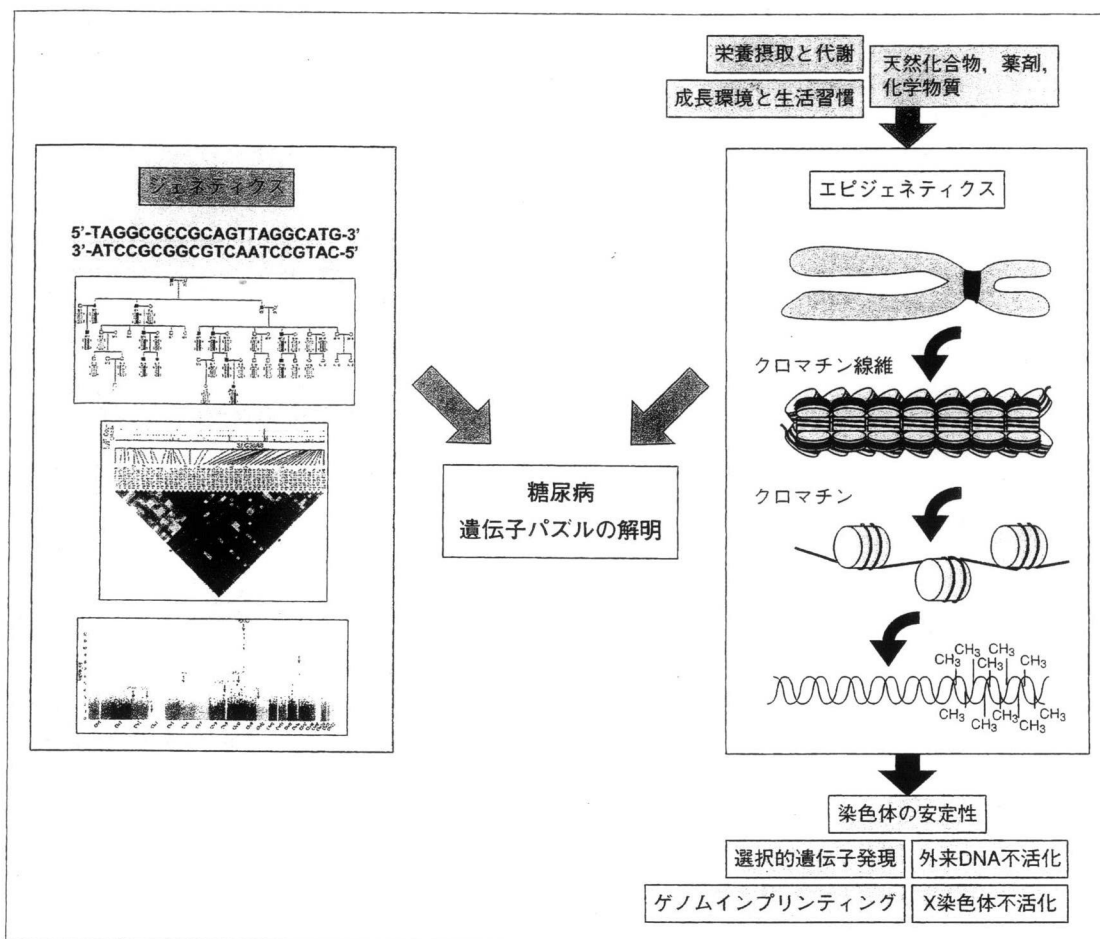


図 1 ジェネティクスとエピジェネティクスの概略図

て同定され、クロマチン構造制御の重要な分子であることが示された。その後の研究で、Sir2 とその高等生物ホモログはカロリー制限下におけるエネルギー代謝の適応や寿命延長に寄与していることが見出された。哺乳類の Sirt1 は絶食に伴う肝における糖新生を誘導し、脂肪組織における脂肪燃焼を促進する。

Sirt2 はヒストン脱アセチル化酵素として見出されたが、Sirt1 の重要な機能はむしろ転写因子などの非ヒストン蛋白質の脱アセチル化である。Sirt1 の標的分子はすでに多数報告されているが、PGC-1 α や FoxO1 の脱アセチル化による活性化が、エネルギー代謝転換のメインストリームであると考えられている。カロリー制限により細胞内の NAD/NADH 比が上昇すると Sirt1 は活性化され、インスリンシグナルに関連する遺伝子発現を

抑制し、長寿へと導くのである^{10,11)}。

この Sirt1 分子を活性化する低分子化合物の探索が酵母を用いて行われた結果、もっとも強力な活性を有した化合物は、赤ワイン成分に含まれているポリフェノールの一種であるリスベラトロールであった。運動やカロリー制限による寿命の延長にはミトコンドリア数の増加がかかわっているともいわれているが、Sirt1 は PGC-1 α 分子の活性を上昇させてミトコンドリア数を増加させていると考えられる。リスベラトロールなどのヒトで上記の効果をもたらすかどうかの検討はまだであるが、今後食品成分によってヒトの寿命がコントロールされる可能性の一部はエピジェネティクスで説明できるかもしれない。

また、Jhdm2a は開放型クロマチンを誘導するヒストン H3K9 脱メチル化酵素であり、褐色脂肪組