

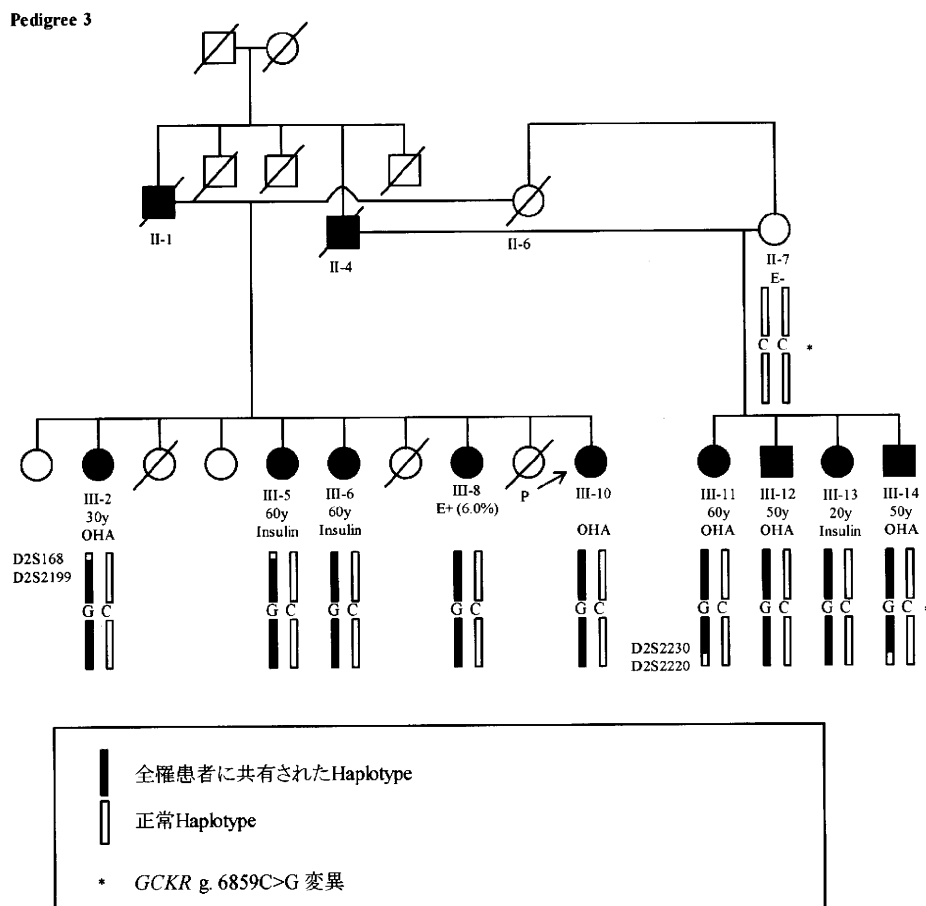
候補遺伝子塩基配列決定：連鎖候補領域に存在する 106 遺伝子から、MODY1-MODY6 遺伝子と関連した特徴を持つ遺伝子群を、データベースを用いた方法(Endeavour web server)にて順位付けし、上位 10%にあたる 11 遺伝子を選択した。そのうち糖代謝以外の代謝機能が明らかな 3 遺伝子を除き 8 遺伝子の塩基配列決定を、糖尿病多発集積家系発端者において行った。その結果、GCKR 遺伝子変異が発端者において同定されたため、GCKR 遺伝子の塩基配列決定を、糖尿病多発集積家系 9 家系の発端者および、旧丹生川村コホートにおける 5 年間の追跡中 HbA1c<6.0%(国際標準値)空腹時血糖<100mg/dl であった 18 名の正常対照者について系統的に行った。この際

GCKR 遺伝子において同定された SNPs のうち、既存データベースに未報告の SNPs については、旧丹生川村コホートの正常対照者 105 名 210 染色体においてタイピングを行い、正常対照者における頻度を決定した。頻度の低い(1%以下)SNPs を rare、そうでないものを common と定義した。その結果、表 2 に示すように糖尿病多発集積家系発端者において有意に多数の rare SNPs が見いだされた(Fisher の正確確率検定にて $p=0.033$)。また、連鎖解析に用いた 4 家系のうちの 1 家系である pedigree 3 において見いだされた rare なエクソン変異 g. 6859C>G は、当該家系内で疾患の有無と完全に co-segregate しており(図 3)、疾患との関連が強く示唆された。

表 2. GCKR 遺伝子変異 (rare SNPs) の頻度

位置	塩基変化	検出アレル数				p	Minor Allele Frequency (MAF)
		家系発端者(n=9)		対照(n=18)			
		Major	Minor	Major	Minor		
変異 (MAF<1%)							
プロモーター	g. -689G>A	17	1	36	0	0.33	0.00
プロモーター	g. -299G>A	17	1	36	0	0.33	0.00
エクソン9	g. 6859C>G	17	1	36	0	0.33	0.00
合計		15	3	36	0	0.033	

図3. 1家系における、候補領域(2p25-22)のハプロタイプ解析および *GCKR* g. 6859C>G 変異



更に5家系での連鎖解析 (遺伝子頻度 = 0.01、phenocopy 率 = 0.1、浸透率 = 0.99) を行い、染色体1番に LOD Score 2.19, NPL Score 4.66 ($p < 0.0004$) の有意な連鎖を認めた (図4)。有意な連鎖を parametric および nonparametric 解析で認めたため fine-mapping を行い連鎖領域を絞り込んだ。その結果連鎖領域は、marker

D1S238-marker D1S425 までの 23Mb に絞りこまれた。この領域には *ADIPOR1* が存在するため、5家系の proband の配列決定を行った。その結果、表3に示すよう promoter 領域に未報告の SNPs が見いだされた。現在、コホートをを用いた検証解析中である。

LOD Score (5 pedigrees)
(Autosomal Dominant)
(Penetrance= 0.1/0.99/0.99)

NPL Score (5 pedigrees)

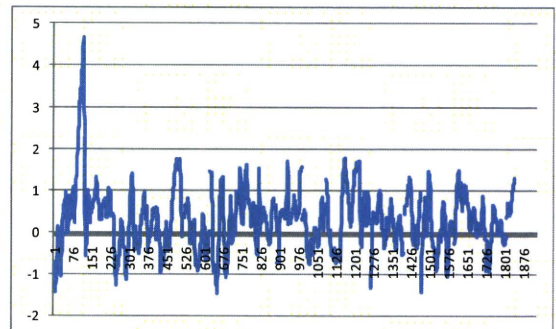
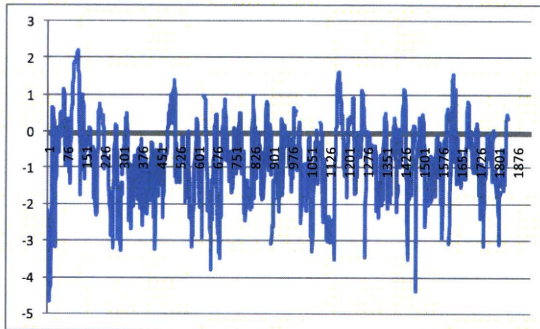


図4. 3世代家系5家系を用いた連鎖解析結果
(左: 常染色体優性モデル、右: ノンパラメトリック解析)

表3. ADIPOR1に見出された SNPs

ADIPOR1	position	rs	Hapmap-JPT(AFD-Asian)	SNPs	wild	conNM	ND	KD5	KD8	KD17	KD23	wild	wild
	53420604	16850809	CC 0.667 CT 0.311 TT 0.022	promoter	CC		CT					0.9	0.1
	53420212	new		promoter	TT	TC	TC	TC				0.8	0.2
	53420046	10920535	ind	promoter	GG			GA	GA			0.8	0.2
	53420042	new		promoter	GG			GA		GA		0.8	0.2
	53419993	2363767	ind	promoter	GG	GA			GA		GA	0.8	0.2
	53419940	4989513	AA 0.200 AG 0.444 GG 0.356	promoter	AA		GG				AG	0.7	0.3
	53419895	7523903	GG 0.841 GC 0.159 CC -	promoter	GG			GC		GC		0.8	0.2
	53419267	new		promoter	CC				CT			0.9	0.1
	53418429	new		promoter	TT		TA					0.9	0.1
	53418381	10800888	TT- TC- CC1.000	promoter	TT	CC	CC	CC	CC	CC	CC	0	1
201194130	53417861	7517286	G 0.390 A 0.610(JSA)	IVS2-22	GG		AA	GA		GA	GA	0.5	0.5
	53417855	7529354	A 0.100 G 0.900(JSA)	IVS2-16	AA	AG	GG	GG	GG	AG	GG	0.1	0.9
	53410658	2275738	ind	IVS4-12	AA	AG	GG	AG	AG	AG	GG	0.3	0.7
	53410654	2275737	TT - TG 0.273 GG 0.727	IVS4-8	TT	TG	GG	TG	TG	TG	GG	0.3	0.7
	53405909	new		IVS6+10	GG		GA					0.9	0.1
	53404710	1342387	AA 0.200 AG 0.467 GG 0.333	IVS7-59	AA	AG	AG	AG	AG	AG	GG	0.4	0.6
	53404304	35179235	ind	IVS8-26	TT		TA					0.9	0.1
	53404084	new		ex8 non-coding	CC		CG					0.9	0.1
	53403558	3737884	GG 0.844 AG 0.156 AA -	ex8 non-coding	GG			GA		GA	GA	0.7	0.3
	53401839	2275736	TT 0.833 AT 0.167 AA -	IVS9-137	TT			TA		TA	TA	0.7	0.3
	53401000	new		3'UTR	TT	TG						1	0
	53400672	10581	CC 0.659 CT 0.318 TT 0.023	3'UTR	CC		CT					0.9	0.1

■能代コホートおよび丹生川村コホートのベースラインデータ：

2つのコホートの概要について表4にまとめた。観察し得た2002-2004年におけるコホートでの2002年(X)および2004年(Y)のHbA_{1c}の相関は、

$$Y=1.0426X \quad (r^2=0.8065, p<0.01)$$

であり(図5)年平均2%程度増加する。この集団の平均が、5.3(%)であることからおよそ年間に0.1%程度増加することが期待される。しかし、この値は年齢に依存する可能性があるため、年齢ごとに増加を検討した。2年間のHbA_{1c}の増加を初年次参加年齢との相関で見たところ、図6の正の有意な相関を見た。注目すべきことに、3年間の観察でHbA_{1c}が0.5%以上増加した参加者が23名認められた。これらの参加

者は、期待される増加に比べてほぼ4-5倍の増加を示し、感受性の高い個体という。

次に体重の変化とHbA_{1c}を見たところ、体重の増加率(x) (= (2004年の体重 - 2002年の体重) / 2002年の体重) とHbA_{1c}の増加(y)は弱いながらも正の相関を認めた ($y = 0.9856 X + 0.2262$, $r^2=0.00363, p<0.05$) (図7)。上記コホートでの観察は、体重増加も糖尿病の感受性を高める要因であることを示している。以上、旧丹生川村のコホートの観察から参加年齢、HbA_{1c}の増加の個体差、体重増加など要因が明らかになった。これら要因に注目し、長期コホートでの高感受性者に注目し、今後、Nested case-control 相関解析を行う予定である。

表4. 今回の研究参加する2つのコホート

-
1. 秋田県能代コホート
対象：3500名
開始：1998年
 2. 岐阜県旧丹生川村コホート
対象：女560名、男430名
平均BMI:女21.8
男22.8
HbA_{1c}(JDS):女5.29
男5.34
-

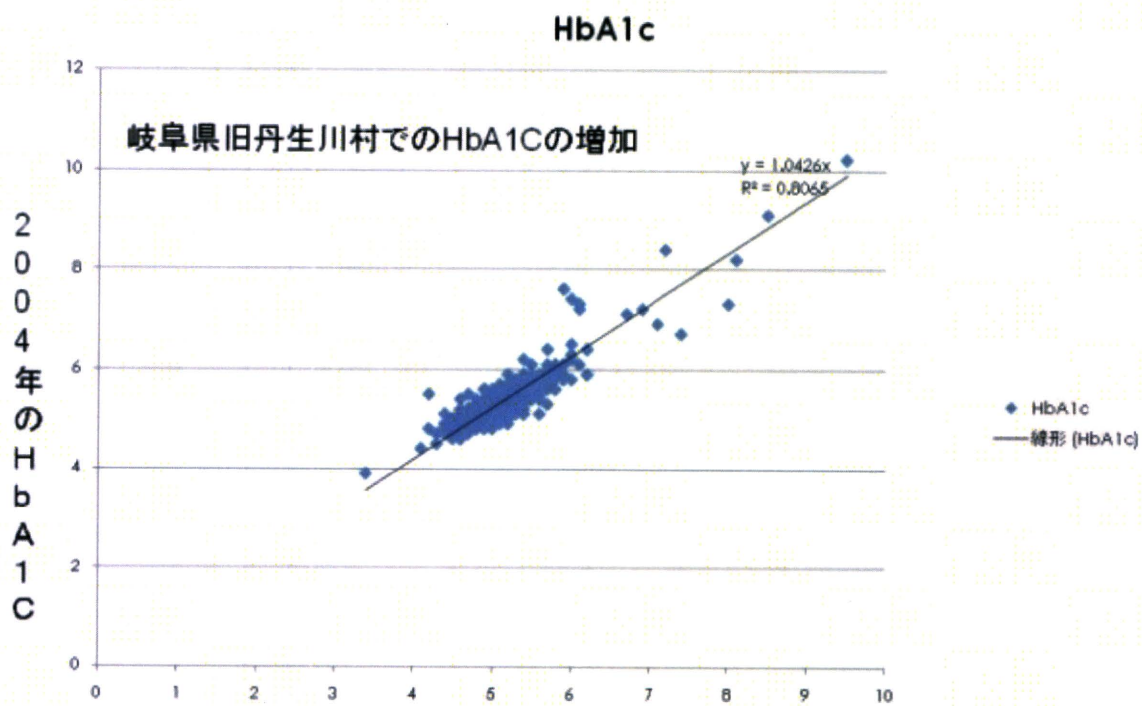


図5. 旧丹生川村コホートにおける2002年と2004年健診時のHbA1cの相関関係

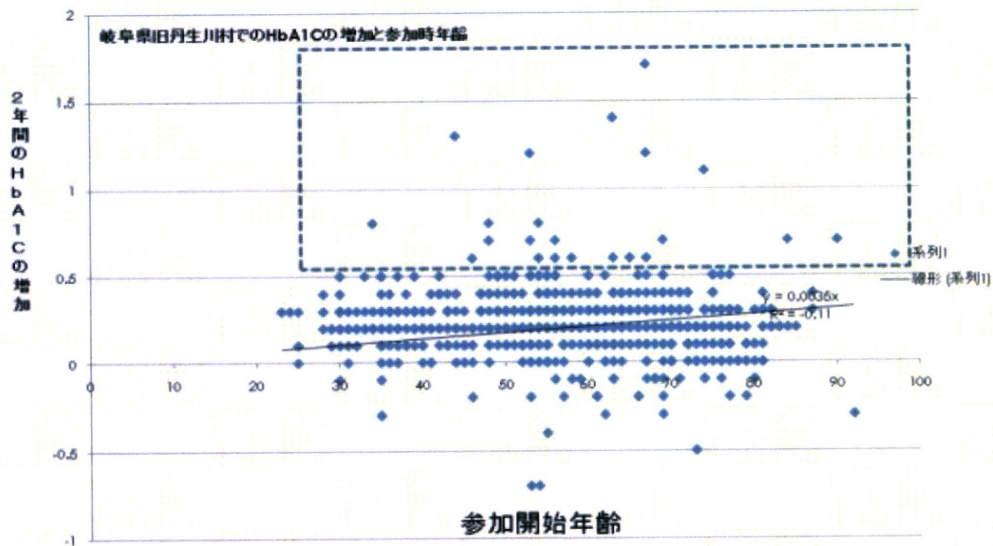
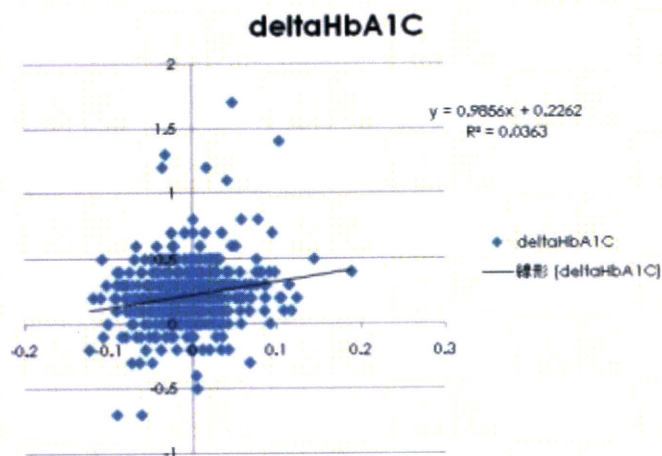


図 6. 旧丹生川村コホートにおける参加時年齢と 2 年間の HbA_{1c} 増加量と

参加時2002年の体重の増加率(X)とその後のHbA_{1c}の増加(Y)



体重の増加率 = (2004年の体重 - 2002年の体重) / 2002年の体重

図 7. 旧丹生川村コホートにおける 2 年間の HbA_{1c} 増加量と体重増加量の相関関係

D. 考察

GCKR遺伝子が糖尿病多発集積家系において発症感受性遺伝子となっていることが示唆された。また、肥満の感受性要因であるADIPR1遺伝子のpromoter領域に未報告のSNPsが確認され、今後、検証解析予定である。またコホートについては、岐阜県丹生川村の2002-2004年のデータを用いた解析では、年齢、体重増加が平均血糖値上昇リスク要因であることが見いだされ、大きくHbA_{1c}が増加する感受性の高い個体が見いだされた。これら結果から、これらの高感受性者は遺伝子解析の候補と考えられた。

E. 結論

3世代にわたり糖尿病に罹患する遺伝的負荷の濃厚な家系について原因遺伝子の検討を行った。10家系のうち1家系の原因遺伝子は既知のMODY3遺伝子変異と考えられた。4家系における全ゲノム連鎖解析によって絞り込んだ有意な候補領域において、空腹時血糖や2型糖尿病リスクとの関連が既報されているGCKRが存在しており、GCKRの配列決定にて、変異が糖尿病多発集積家系発端者において有意に高頻度であったことや、GCKR変異と一致した発症がみられた家系の存在から、糖尿病多発集積家系の発症要因としてGCKR変異が影響を及ぼしていることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tanaka D, Nagashima K, Sasaki M, Yamada C, Funakoshi S, Akitomo K, Takenaka K, Harada K, Koizumi A, and Inagaki N. *GCKR* mutations in Japanese families with clustered type 2 diabetes. *Mol. Genet. Metab.* 102(4):453-460, 2011
2. Takahashi I, Yamada Y, Kadowaki H, Horikoshi M, Kadowaki T, Narita T, Tsuchida S, Noguchi A, Koizumi A, Takahashi T. Phenotypical variety of insulin resistance in a family with a novel mutation of the insulin receptor gene. *Endocr. J.* 57:509-516, 2010
3. Lei X, Zhang S, Barbour SE, Bohrer A, Ford EL, Koizumi A, Papa FR, Ramanadham S. Spontaneous development of ER stress that can lead to diabetes mellitus is associated with higher calcium-independent phospholipase A2 (iPLA2beta) expression: A role for regulation by SREBP-1. *J. Biol. Chem.* 285(9):6693-6705, 2010
4. Huang L, Toyoshima M, Asakawa A, Inoue K, Harada K, Kinoshita T, Chen S, Koizumi A. Levels of N-acyl ethanolamines in O,O,S-trimethylphosphorothioate (OOS-TMP)-treated C57BL/6J mice and potential anti-obesity, anti-diabetic effects of OOS-TMP in hyperphagia and hyperglycemia mouse models. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 92(1):1-5, 2009
5. Hirohata M, Minata M, Harada KH, Hitomi T, Krust A, Koizumi A. Ablation of estrogen receptor alpha (ER α) prevents upregulation of POMC by leptin and insulin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 371(2), 320-323, 2008

2. 学会発表

1. 島中裕子、人見敏明、小林果、岩沢ころ、原田浩二、小泉昭夫. Akita mouse 由来 insulinoma 細胞株を用いた ER strss と Box C/D snoRNPs の関連性の検討 **第 81 回日本衛生学会** 2010 年 3 月 25-28, 東京
2. 廣澤 倫, 皆田 睦子、原田 浩二、人見敏明、小泉 昭夫. エストロゲン受容体 α の leptin-POMC 摂食制御機構への関与, **第 45 回日本糖尿病学会近畿地方会**, 2008 年 11 月 22 日, 神戸
3. 皆田睦子、原田浩二、人見敏明、小泉昭夫. Perfluorooctanoic Acid (PFOA) の胆汁排泄における Mdr2 と PPAR alpha の働き, **第 3 回トランスポーター研究会**, 2008 年 6 月 7-8 日, 京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1. 特許出願：小泉昭夫、永田和宏、森戸大介、高島成二、山崎悟、橋本信夫、松浦範夫、人見敏行。出願番号：特願 2009-244938

発明の名称：モヤモヤ病関連遺伝子及びその利用

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

1万人ゲノムコホートをを用いた日本人糖尿病感受性候補遺伝子の検証に関する研究

研究分担者 松田 文彦 京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター
ゲノム情報疫学 教授

研究要旨： 京都大学は2005年12月、滋賀県長浜市と「ながはま0次予防コホート事業」の協定を締結以後、1万人規模の日本人ゲノムコホート事業を推進してきた。平成22年度、当初目標としてきた本事業参加者数1万人が達成された。本研究では、同ゲノムコホートデータ基盤を背景に、糖尿病家族歴濃厚家系検体を用いた全ゲノム連鎖解析により絞り込まれた疾患感受性候補遺伝子に関して日本人における糖尿病発症と各候補遺伝子との関連性に関するゲノム疫学的妥当性に関して検証作業を行う。日本人における糖尿病の遺伝的背景の解明に寄与することを目的としている。

A. 研究目的

糖尿病発症に関わる糖尿病感受性遺伝子の多くは未同定である。同定された原因遺伝子についても異常を有する頻度に人種差が報告されており、日本人における検討は本邦およびアジアでの糖尿病患者の激増を検討する上で重要である。本研究は、最近報告の多いGenome-wide association studyとは異なり、3世代以上にわたり糖尿病患者を有する日本人糖尿病家族歴濃厚症例を用いた全ゲノムワイドの連鎖解析を用いて絞り込んだ糖尿病感受性が示唆される候補遺伝子に関して、Case-Control解析を行い、日本人における糖尿病発症との関連性に関して検証を行うことで新たな糖尿病感受性遺伝子を同定することを目的とする。

B. 研究方法

京都大学医学部附属病院および研究分担者所属施設で集積された、3世代以上にわたり糖尿病患者を有する糖尿病家族歴濃厚患者（発端者）およびその親族からの提供検体を用いた全ゲノム連鎖解析およびハプロタイプ解析等により絞り込まれた糖尿病発症原因候補遺伝子に関して、検証作業を行う。本検証作業のために、京都大学医学研究科が滋賀県長浜市との協力で登録者数1万人を目標に進めている、日本人ゲノム疫学コホート（ながはま0次予防コホート事業）を整備を進めてきた。そのデータ基盤をもとに、絞り込まれた糖尿病候補遺伝子に関して、日本人糖尿病患者群と非糖尿病群のCase-Control解析を行い、日本人における同遺伝子異常による糖尿病の頻度に関するゲノム疫学的検討を行う。データ管理と解析には、従来通りゲノム医学センター遺伝

解析専用データベースを用いる。

ながはま0次予防コホート事業は、京都大学医学研究科と滋賀県長浜市の協定に基づき、医学研究科長と市長を事業実施者として、約1万人の長浜市民の協力を得て行う共同事業である。本事業は、生活習慣・環境質問票、血液・尿検査、関連検査などにより得られた情報をベースラインとし、疾病罹患・死亡の追跡調査を行って、遺伝子を含む多様な健康危険因子の影響やそれらの相互作用の解明を目指している。このコホート事業は、特定の疾患に限定したものではなく、参加者の健康情報やゲノムワイド解析を中心とした遺伝子解析により得られる遺伝情報を完備したバイオバンク的な性格を持たせ、出来る限り多くの疾患の解析に利用できること、またゲノムコホート研究の標準的モデルを提供し、将来的に国内外で同様のコホート研究を立ち上げることで、より大規模で質の高いゲノム疫学研究を行うためのモデルケースと位置付けている。本事業の特色は、個別同意を得た地域住民を対象としたコホートとして追跡調査を視野に入れ、各種試料（電子データ、血液・尿検体、質問票含む紙などの媒体）を連結可能匿名化として扱うこと、参加者の健康情報の返却に基づく地域健康づくり活動との連携を調和させることにある。如何なる場合でも「個人情報の保護」を最優先し、長浜市民が社会的な不利益を受けないことを必須と認識して事業を運営する。

現行の「ヒトゲノム遺伝子解析に関する倫理指針」では、本事業で取り組む諸課題を明確な形では包含していないため、医学研究科と長浜市は研究倫理に関する独自のルール（「ながはまルール」）作りを

進めて、本事業に携わるすべての者が遵守すべき事項及び事業の基本的な仕組みを定める「ながはま0次予防コホート事業における試料等の蓄積及び管理運用に関する条例」としてまとめ、2008年6月、長浜市議会で成立した。毎年、データ蓄積続け、集積データは着実に増加している。

（倫理面への配慮）

本申請研究は、ヘルシンキ宣言に基づき行われている。京都大学大学院医学研究科・医学部医の倫理委員会にて承認を受けており、検体は匿名化により個人情報保守の厳守を徹底している。

C. 研究結果

2008年11月下旬より国民健康保険加入者を対象に健診事業を行い、2000名以上の参加者の健康情報、血液・尿サンプルの取得による各種バイオマーカーの測定をおこなった。それ以降も、コホートデータ集積し、本研究登録者は平成22年4月時点で約6000人を超え、平成22年12月時点で当初予定されていた1万名以上のコホートデータが集積されており、今後もデータ収集継続予定である。

得られた検体と情報は、二重匿名化の後、京都大学医学研究科附属ゲノム医学センターの検体保管庫および専用データベースに蓄積した。これらのゲノム疫学的データベースをもとに、京都大学糖尿病・栄養内科学を中心に進めている糖尿病家族歴濃厚家系を用いた糖尿病感受性遺伝子検索により絞り込まれた候補遺伝子に対する日本人糖尿病患者および非糖尿病患者によるCase-Control解析等の検証解析のデータ基盤データとした。

D. 考察

本研究は、糖尿病をはじめとする様々な疾患解析の研究基盤とすることを目的に2008年から開始され継続的に進められている日本人を対象にした大規模ゲノムコホートデータ構築事業の一環として行われているものである。

糖尿病発症関連遺伝子同定に関して、これまで本研究のように日本人糖尿病家族歴濃厚家系検体による遺伝学的解析報告は乏しく、本申請研究全体では、上記長浜0次コホート(1万人)に加え、岐阜県高山コホート(約970人)および秋田県能代市コホート(約3500人)の日本人コホートのデータ蓄積・整備が行われ、今後も上記豊富な日本人でのデータ基盤をもとに、様々な疾患発症原因解析に係る検証解析が可能であり、本研究は、日本人糖尿病発症の遺伝的背景を検討する極めて有望な手法であると考えられる。今後、*in vitro*解析による検証と連動して、更なる新規糖尿病感受性遺伝子を同定していく予定である。

E. 結論

糖尿病感受性候補遺伝子の検証のために、日本人ゲノムコホートデータベースの整備を進め、平成22年末までに目標としていた1万人以上のコホートデータを集積した。今後も継続して糖尿病家族歴濃厚検体による全ゲノム連鎖解析およびハプロタイプ解析により絞り込まれる候補遺伝子に関して、日本人コホートを用いて新規糖尿病感受性遺伝子の検証解析を行う予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Murakami Y, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Harada Y, Matsuda F, Tajima A, Kosaka N, Ochiya T, Shimotohno K. The progression of liver fibrosis is related with overexpression of the miR-199 and 200 families. *PLoS One*. 6(1):e16081, 2011
2. Hirose K, Kawaguchi T, Matsuda F, Yamada, R. Estimation of P-value of MAX test with double triangle diagram for 2 x 3 SNP case-control tables. *Genet. Epidemiol*. 34:543-551, 2010
3. Nalpas B, Lavialle-Meziani R, Plancoulaine S, Jouanguy E, Nalpas A, Munteanu M, Charlotte F, Ranque B, Patin E, Heath S, Fontaine H, Vallet-Pichard A, Pontoire D, Bourlière M, Casanova JL, Lathrop M, Bréchet C, Poynard T, Matsuda F, Pol S, Abel L. Interferon- γ receptor 2 gene variants are associated with liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C infection. *Gut* 59 1120-1126, 2010
4. Kochi Y, Okada Y, Suzuki A, Ikari K, Terao C, Takahashi A, Yamazaki K, Hosono N, Myouzen K, Tsunoda T, Kamatani N, Furuichi T, Ikegawa S, Ohmura K, Mimori T, Matsuda F, Iwamoto T, Momohara S, Yamanaka H, Yamada R, Kubo M, Nakamura Y, Yamamoto K. A regulatory variant in CCR6 is associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Nat. Genet*. 42 515-519, 2010
5. Kanai M, Yoshioka A, Tanaka S, Nagayama S, Matsumoto S, Nishimura T, Niimi M, Teramukai S, Takahashi R, Mori Y, Kitano T, Ishiguro H, Yanagihara K, Chiba T, Fukushima M, Matsuda F. Associations between glutathione S-transferase pi Ile(105)Val and glyoxylate aminotransferase Pro(11)Leu and Ile(340)Met polymorphisms and early-onset oxaliplatin-induced neuropathy. *Cancer Epidemiol*. 34:189-193, 2010
6. Wahlberg K, Jiang J, Rooks H, Jawaid K, Matsuda F, Yamaguchi M, Lathrop M, Thein SL, Best S. The HBS1L-MYB intergenic interval associated with elevated HbF levels shows characteristics of a distal regulatory region in erythroid cells. *Blood* 114(6):1254-1262, 2009

- 146, 146-147, 2008
7. Nakanishi H, Yamada R, Gotoh N, Hayashi H, Yamashiro K, Shimada N, Ohno-Matsui K, Mochizuki M, Saito M, Iida T, Matsuo K, Tajima K, Yoshimura N, Matsuda F. A genome-wide association analysis identified a novel susceptible locus for pathological myopia at 11q24.1. *PLoS Genet.* 5:e1000660, 2009
 8. Gotoh N, Nakanishi H, Hayashi H, Yamada R, Otani A, Tsujikawa A, Yamashiro K, Tamura H, Saito M, Saito K, Iida T, Matsuda E, Yoshimura N. ARMS2 (LOC387715) variants in Japanese patients with exudative age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Am. J. Ophthalmol.* 147:1037-1041, 1041.e1-2, 2009
 9. Tocharoentanaphol C, Promso S, Zelenika D, Lowhnoo T, Tongsimma S, Sura T, Chantratita W, Matsuda F, Mooney S, Sakuntabhai A. Evaluation of resequencing on number of tag SNPs of 13 atherosclerosis-related genes in Thai population. *J. Hum. Genet.* 53, 74-86, 2008
 10. Hung RJ, McKay JD, Gaborieau V, Boffetta P, Hashibe M, Zaridze D, Mukeria A, Szeszenia-Dabrowska N, Lissowska J, Rudnai P, Fabianova E, Mates D, Bencko V, Foretova L, Janout V, Chen C, Goodman G, Field JK, Liloglou T, Xinarianos G, Cassidy A, McLaughlin J, Liu G, Narod S, Krokan HE, Skorpen F, Elvestad MB, Hveem K, Vatten L, Linseisen J, Clavel-Chapelon F, Vineis P, Bueno-de-Mesquita HB, Lund E, Martinez C, Bingham S, Rasmuson T, Hainaut P, Riboli E, Ahrens W, Benhamou S, Lagiou P, Trichopoulos D, Holcátová I, Merletti F, Kjaerheim K, Agudo A, Macfarlane G, Talamini R, Simonato L, Lowry R, Conway DL, Znaor A, Healy C, Zelenika D, Boland A, Delepine M, Foglio M, Lechner D, Matsuda F, Blanche H, Gut I, Heath S, Lathrop M, Brennan P. A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25. *Nature* 452, 633-637, 2008
 11. Gotoh N, Yamada R, Matsuda F, Yoshimura N, Iida T. Manganese superoxide dismutase gene (SOD2) polymorphism and exudative age-related macular degeneration in the Japanese population. *Am. J. Ophthalmol.* 146, 146-147, 2008
 12. Trégouet DA, Groop PH, McGinn S, Forsblom C, Hadjadj S, Marre M, Parving HH, Tarnow L, Telgmann R, Godefroy T, Nicaud V, Rousseau R, Parkkonen M, Hoverfält A, Gut I, Heath S, Matsuda F, Cox R, Kazeem G, Farrall M, Gauguier D, Brand-Herrmann SM, Cambien F, Lathrop M, Vionnet N. For the EURAGEDIC Consortium. G/T substitution in intron-1 of UNC13B gene is associated with increased risk of nephropathy in patients with type 1 diabetes. *Diabetes* 57(10):2843-2850, 2008
 13. The SEARCH Collaborative Group, Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, Gut I, Lathrop M, Collins R. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy--a genomewide study. *N. Engl. J. Med.* 359, 789-799, 2008
 14. Yamano E, Isowa T, Nakano Y, Matsuda F, Hashimoto-Tamaoki T, Ohira H, Kosugi S. Association study between reward dependence temperament and a polymorphism in the phenylethanolamine N-methyltransferase gene in a Japanese female population. *Compr. Psychiatry.* 49, 503-507, 2008
 15. Gotoh N, Yamada R, Nakanishi H, Saito M, Iida T, Matsuda F, Yoshimura N. Correlation between CFH Y402H and HTRA1 rs11200638 genotype to typical exudative age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy phenotype in the Japanese population. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 36, 437-442, 2008
 16. McKay JD, Hung RJ, Gaborieau V, Boffetta P, Chabrier A, Byrnes G, Zaridze D, Mukeria A, Szeszenia-Dabrowska N, Lissowska J, Rudnai P, Fabianov E, Mates D, Bencko V, Foretova L, Janout V, McLaughlin J, Shepherd F, Montpetit A, Narod S, Krokan HE, Skorpen F, Elvestad MB, Vatten L, Njølstad I, Axelsson T, Chen C, Goodman G, Barnett M, Loomis MM, Lubiński J, Matyjasik J, Lener M, Oszutowska D, Field J, Liloglou T, Xinarianos G, Cassidy A; EPIC Study, Vineis P, Clavel-Chapelon F, Palli D, Tumino R, Krogh V, Panico S, González CA, Ramón Quirós J, Martínez C, Navarro

C, Ardanaz E, Larrañaga N, Kham KT, Key T, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Trichopoulou A, Linseisen J, Boeing H, Hallmans G, Overvad K, Tjønneland A, Kumle M, Riboli E, Zelenika D, Boland A, Delepine M, Foglio M, Lechner D, Matsuda E, Blanche H, Gut I, Heath S, Lathrop M, Brennan P. Lung cancer susceptibility locus at 5p15.33. *Nat. Genet.* 40(12):1404-1406, 2008

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

糖尿病多発家系の検索および臨床データの収集に関する研究

研究分担者 池田 正毅 正名会池田病院 院長

研究要旨：糖尿病家族歴濃厚な大家系検体を用いた全ゲノム連鎖解析により新たな糖尿病感受性遺伝子を同定する目的で、解析の基盤となる糖尿病家族歴濃厚家系の検索、臨床データの収集および検体採取を継続して行ってきた。研究期間内に、3世代にわたる糖尿病患者を有し親族13人中8人の糖尿病患者を含む糖尿病家族歴濃厚家系を見だし、累積5名が研究協力承諾にて検体および臨床データ等収集した。継続して他の親族の研究参加に関する同意取得を進めるとともに新たな大家系の検索を進めている。

A. 研究目的

本邦における糖尿病患者数の増加は著しい。1997年時点で有病者数690万人（予備軍数680万人）から10年間（2007年時点）で有病者890万人（予備軍1320万人）と、有病者数のみならず糖尿病予備軍（糖尿病の可能性が否定できない人）数ともに著しく増加している。本邦における糖尿病およびその予備軍は推計2210万人で、40歳以上の約3人に1人が糖尿病またはその予備軍と推定されている。本邦およびアジア諸国で特に認められている糖尿病の激増要因としての遺伝的背景を検討する上で、糖尿病家族歴濃厚家系を集積し遺伝的要因が濃縮された条件下で発症原因遺伝子を絞り込む研究戦略は、糖尿病発症原因遺伝子の多くは未同定であり同定された原因遺伝子に関しても異常頻度に人種差が報告されていることから有意義なものであると考えられる。

本研究は、糖尿病家族歴濃厚家系を用いた全ゲノム連鎖解析による疾患感受性遺伝

子の絞り込みを行うための基盤となる糖尿病家族歴濃厚家系を有する症例および血縁者の検索、臨床データの収集および検体採取を主たる目的としている。

B. 研究方法

正名会池田病院に外来通院または入院中の糖尿病関連自己抗体陰性の糖尿病患者の中で、3世代にわたり糖尿病患者を有する糖尿病家族歴濃厚家系を聞き取り調査により抽出し、本人および親族への本研究内容説明および参加協力に関する意向の確認を主導的に行い、京都大学大学院医学研究科・医学部医の倫理委員会および池田病院倫理委員会にて承認された「ヒト遺伝子研究への協力についての意志の確認書」を用いた文書による研究参加の承諾を得、承諾を得られた患者および親族に関してゲノムDNA抽出用に採血を行い、医療機関に通院していない親族等に対しては、同様に書面での承諾取得後、ゲノムDNA抽出用採血とともに、身体計測、既往歴、一般検査所見

などの臨床所見の収集および糖尿病関連検査を含む一般検査用採血を行った。

(倫理面への配慮)

本申請研究はヘルシンキ宣言に基づき行われている。京都大学大学院医学研究科・医学部医の倫理委員会（承認番号 G-267）および池田病院倫理委員会に申請書提出・承認を受けている。全ての検体は匿名化（記号化）により個人情報保守の厳守を徹底している。遺伝子カウンセリングを含む患者フォローアップ体制を確立している。

C. 研究結果

研究初年度から本年度まで継続的に糖尿病家族歴濃厚患者家系の集積を進めてきた。これまでに当院内科外来通院中の2型糖尿病として加療されている患者で、3世代にわたり糖尿病患者を有し、親族13人中8人の糖尿病患者を認める糖尿病家族歴濃厚家系を見だし、発端者を含め親族あわせて5名の研究参加の承諾を得、ゲノムDNA抽出用採血を行い、各種臨床データを収集した。さらに残りの親族に対しても研究説明等行っており、血縁者の研究参加登録を継続して進めている。

D. 考察

家族歴濃厚患者について、今まで外来では漫然と見過ごされてきた複数の症例（家系）が、今回の詳細な調査で明らかとなり、潜在的に多くの該当症例の存在が改めて再確認された。

同時に、本研究対象に適合すると思われる糖尿病家族歴濃厚家系患者であっても、遺伝子解析に対する不安・一部思い込み等から、研究参加承諾が思ったほど得られず、

対象家系、特に大家系内で統計解析可能な数の研究参加同意を得ることの困難さを実感している。しかしながら、これまで本研究のように日本人において家族歴濃厚家系検体を基盤とした大規模な遺伝学的解析報告はなく、日本人糖尿病発症の遺伝的背景を検討する極めて有望な手法であると考えられる。解析基盤となる糖尿病家族歴濃厚症例・家系の集積は今後の研究においても重要な研究資産となるものと考えられる。

E. 結論

日本人糖尿病発症原因遺伝子同定のため、家族歴濃厚家系の収集を継続して行った。3世代にわたる糖尿病家族歴濃厚な大家系を見だし、累計5名の血液検体および臨床データを収集し、今後も継続して家系データ集積を進めていく予定である。

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
 1. 清水祐介、宇佐美勝、井田健一、池田弘毅、池田正毅. ピオグリタゾンの体重増加に対するミグリトールの効果. **第47回日本糖尿病学会近畿地方会**、2010年11月13日、大阪
 2. 宇佐美勝、井田健一、清水祐介、池田弘毅、今井晴恵、佐久間智子、木村祐子、小松隆之、児玉光顕、吉崎祐子、池田正毅. ナテグリニドとミチグリニドの血糖降下作用の比較. **第47回日本糖尿病学会近畿地方会**、2010年11月13日、大阪
 3. 池田弘毅、井田健一、木村祐子、小松隆之、児玉光顕、吉崎祐子、宇佐美勝、池田正毅. シタグリプチンの血糖降下作用に関する検討. **第47回日本糖尿病学会近畿地方会**、2010年11月13日、大

阪

4. 宇佐美勝、清水祐介、井田健一、池田弘毅、佐久間智子、木村祐子、小松隆之、児玉光顕、吉崎祐子、池田正毅. インスリン治療2型糖尿病患者に対するピオグリダゾンの併用効果. **第53回日本糖尿病学会年次学術集会**、2010年5月27-29日、岡山
5. 井田健一、宇佐美勝、木村祐子、小松隆之、児玉光顕、吉崎祐子、池田弘毅、池田正毅. Ikeda Study報告(第6報)～インスリン単独とインスリン+SU薬併用療法の比較プロスペクティブスタディー. **第53回日本糖尿病学会年次学術集会**、2010年5月27-29日、岡山
6. 清水祐介、宇佐美勝、井田健一、池田弘毅、池田正毅. メトホルミンとピオグリダゾンの臨床効果に関する比較検討. **第53回日本糖尿病学会年次学術集会**、2010年5月27-29日、岡山
7. 清水祐介、宇佐美勝、井田健一、池田弘毅、池田正毅. 非肥満型2型糖尿病疾患に対するメホルミンの有効性の検討. **第46回日本糖尿病学会近畿地方会**、2009年11月3日、京都
8. 宇佐美勝、立石晃子、柴野めぐみ、山内真理、川口桂、清水祐介、成澤勇樹、井田健一、池田弘毅、池田正毅. 新しいキットによるインスリン抗体価の測定—従来法との比較—. **第46回日本糖尿病学会近畿地方会**、2009年11月3日、京都
9. 立石晃子、井田健一、柴野めぐみ、山内真理、川口桂、宇佐美勝、池田弘毅、池田正毅. 糖尿病患者におけるシスタチンCの評価. **第46回日本糖尿病学会近畿地方会**、2009年11月3日、京都
10. 穴倉弘枝、別當憲子、太田美樹、井田健一、池田弘毅、池田正毅. 減量クリニカルパスの作成と活用. **第46回日本糖尿病学会近畿地方会**、2009年11月3日、京都
11. 成澤勇樹、宇佐美勝、清水祐介、井田健一、小松隆之、木村祐子、児玉光顕、吉崎祐子、池田弘毅、池田正毅. 外来での積極的な運動指導による効果. **第46回日本糖尿病学会近畿地方会**、2009年11月3日、京都
12. 井田健一、宇佐美勝、木村祐子、小松隆之、児玉光顕、吉崎祐子、池田弘毅、池田正毅. ノボラピッド30ミックスとヒューマログミックス25の血糖降下作用の違いに関する検討. **第46回日本糖尿病学会近畿地方会**、2009年11月3日、京都
13. 佐久間智子、今井晴恵、宇佐美勝、井田健一、児玉光顕、小松隆之、木村祐子、吉崎祐子、池田正毅. スタチン治療中の2型糖尿病患者に対する、スタチン増量効果とezetimibeの併用効果の比較. **第46回日本糖尿病学会近畿地方会**、2009年11月3日、京都
14. 池田弘毅、井田健一、宇佐美勝、木村祐子、小松隆之、児玉光顕、吉崎祐子、池田正毅. CKD stage 3の糖尿病性腎症の臨床経過に関する検討. **第46回日本糖尿病学会近畿地方会**、2009年11月3日、京都
15. 井田健一、宇佐美勝、木村祐子、小松隆之、児玉光顕、吉崎祐子、池田正毅. Ikeda study報告(第5報)～インスリン単独とインスリン+SU薬併用療法の比較プロスペクティブスタディー～. **第52回日本糖尿病学会総会**、2009年5月21-24日、大阪
16. 太田美樹、別當憲子、穴倉弘枝、城内蘭子、木村祐子、宇佐美勝、池田正毅. カーボカウントによる食事療法に向けて～入院食から算出した炭水化物量とインスリン注射量の関係～. **第52回日本糖尿病学会総会**、2009年5月21-24日、大阪
17. 佐久間智子、宇佐美勝、井田健一、池田正毅. 糖代謝に対する、アトルバスタチンとロスバスタチンの作用比較. **第52回日本糖尿病学会総会**、2009年5月21-24日、大阪
18. 清水祐介、宇佐美勝、井田健一、池田正毅. ピオグリダゾンの体脂肪量、体水分量に与える影響. **第52回日本糖尿病学会総会**、2009年5月21-24日、大阪
19. 宇佐美勝、清水祐介、佐久間智子、井田健一、小松隆之、木村祐子、児玉光

- 頭、吉崎祐子、池田正毅。経口薬治療に対する一日一回のグラルギン追加併用療法の長期観察と評価。第52回日本糖尿病学会総会。2009年5月21-24日、大阪
20. 宇佐美勝, 井田健一, 清水祐介, 成澤勇樹, 立石晃子, 萬元宏, 柴野めぐみ, 山内真理, 小松隆之, 池田正毅。アナログ混合インスリン製剤注射後の血中インスリン値の変化。第45回日本糖尿病学会近畿地方会, 2008年11月22日, 大阪
21. 小松隆之, 井田健一, 木村祐子, 児玉光頭, 吉崎祐子, 別當憲子, 宇佐美勝, 池田正毅。厳格な食事療法により著明な尿蛋白の改善を認めた一例。第45回日本糖尿病学会近畿地方会, 2008年11月22日, 大阪
22. 太田美樹, 別當憲子, 穴倉弘枝, 城内繭子, 木村祐子, 池田正毅。入院食から算出した炭水化物量とインスリン注射量の関係。第45回日本糖尿病学会近畿地方会, 2008年11月22日, 大阪
23. 清水祐介, 宇佐美勝, 井田健一, 池田正毅。ピオグリタゾン投与例におけるHbA1c、体重、体脂肪量、体水分量の6ヶ月間の観察。第45回日本糖尿病学会近畿地方会, 2008年11月22日, 大阪
24. 玉田大介, 風川尊子, 紅林昌吾, 井田健一, 池田正毅。2型糖尿病患者に対するピオグリタゾン投与による尿中アルブミン排泄量の減少効果。第45回日本糖尿病学会近畿地方会, 2008年11月22日, 大阪
25. 宇佐美勝, 山内真理, 立石晃子, 柴野めぐみ, 萬元宏, 清水祐介, 井田健一, 木村祐子, 小松隆之, 児玉光頭, 吉崎祐子, 池田正毅。10年間の抗GAD抗体測定結果の分析。第51回日本糖尿病学会学術集会, 2008年5月22日, 東京
26. 井田健一, 宇佐美勝, 木村祐子, 小松隆之, 児玉光頭, 吉崎祐子, 池田正毅。Ikeda Study報告(第4報)～インスリン単独とインスリン+SU薬併用療法の比較プロスペクティブスタディ～。第51回日本糖尿病学会学術集会, 2008年5月23日, 東京
27. 小松隆之, 井田健一, 木村祐子, 児玉光頭, 吉崎祐子, 佐久間智子, 宇佐美勝, 池田正毅。糖尿病性腎症2期に対するARBの効果～3剤による半年間の比較～。第51回日本糖尿病学会学術集会, 2008年5月23日, 東京
- H. 知的財産権の出願・登録状況
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

糖尿病家族歴濃厚症例の検索および臨床データの収集に関する研究

研究分担者 岡本 元純 大津赤十字病院 副院長

研究要旨：新たな糖尿病感受性遺伝子同定目的で、日本人糖尿病家族歴濃厚家系を用いた全ゲノムワイドの連鎖解析を行う基盤づくりのため、研究初年度から継続して糖尿病家族歴濃厚家系の検索、臨床データの収集および検体採取を行った。3世代にわたる糖尿病患者を含む糖尿病家族歴濃厚家系を見だし研究参加の承諾得られた血縁者の検体および臨床データ等の収集を行った。今後も同家系において可能な限り多くの研究協力者をつのっていくとともに、今後も継続して糖尿病家族歴濃厚家系を検索し、データを集積していく予定である。

A. 研究目的

糖尿病の発症には環境因子と複数の遺伝要因が関与するとされ、発症の家族集積性が知られている。糖尿病発症原因遺伝子の検索が長年にわたり精力的に行われている。しかしながら、明らかになった糖尿病発症原因遺伝子に起因する糖尿病患者数と現在の激増する糖尿病患者数を比べても、発症原因遺伝子（発症感受性遺伝子）の多くは未同定であると考えられる。海外で報告されている原因遺伝子に関しても異常頻度到人種差が報告されるため、海外報告結果を鵜呑みにするのではなく日本人における実態解明が必要である。

本研究は糖尿病家族歴濃厚家系を用いた全ゲノム連鎖解析による疾患感受性遺伝子の絞り込みを行うにあたり、ゲノム解析を遂行するための基盤となる糖尿病家族歴濃厚家系を有する症例および血縁者の検索、臨床データの収集および検体採取を主たる目的としている。

B. 研究方法

大津赤十字病院外来通院中または入院中の糖尿病関連自己抗体陰性の糖尿病患者の中で、3世代にわたり糖尿病患者を有する糖尿病家族歴濃厚家系を聞き取り調査により抽出し、本人および親族への、本研究内容説明および参加協力に関する意向の確認を主導的に行い、京都大学大学院医学研究科・医学部医の倫理委員会および大津赤十字病院の倫理委員会にて承認された「ヒト遺伝子研究への協力についての意志の確認書」を用いた文書による研究参加の承諾を得た。承諾を得られた患者および親族に関してゲノムDNA抽出用に採血を行い、医療機関に通院していない親族等に対しては、同様に書面での承諾取得後、ゲノムDNA抽出用採血とともに、身体計測、既往歴、一般検査所見などの臨床所見の収集および糖尿病関連検査を含む一般検査用採血を行った。

（倫理面への配慮）

本申請研究はヘルシンキ宣言に基づき行われている。京都大学大学院医学研究科・医学部医の倫理委員会（承認番号 G-267）および大津赤十字病院の倫理委員会（134号）に解析申請書提出・承認を受けており、検体は匿名化（記号化）により個人情報保守の厳守を徹底している。京都大学医学部附属病院遺伝子診療部における遺伝子カウンセリングを含む患者フォローアップ体制を確立している。

C. 研究結果

研究初年度から一貫して糖尿病家族歴濃厚家系の収集に努め、当院内科外来通院患者で、3世代にわたり、親族12人中9人の糖尿病患者を含む糖尿病家族歴濃厚家系を見いだした。発端者を含め親族あわせて3名に研究協力同意頂き、承諾書取得後、ゲノムDNA抽出用採血および各種臨床データを収集し、他の親族に対しても、発端者を通じて研究協力参加に関して継続的に連絡を試みており、複数の親族に研究参加への説明を行った。

D. 考察

近年における本邦の糖尿病患者およびその予備軍の数は、40歳以上の約3人に1人程度と非常に高頻度であるとの統計結果から考察すると、潜在的に多くの糖尿病家族歴濃厚家系の存在が想定される。日常診療でもより詳細な家族歴聴取が必須である。また、本研究対象のような糖尿病大家系メンバーは、一か所居住というケースは稀で、殆どが各地に点在して居住されており、お互いの交流もほとんど取れていないケースも多々見受けられる。遺伝子解析という心理的不安感等も含めて、対象患者（親族）

リクルートは非常な困難が伴う。解析の基盤となる糖尿病家族歴濃厚症例を極力多数集積していくことが重要と考えられる。

E. 結論

日本人糖尿病発症原因遺伝子同定のため、糖尿病家族歴濃厚な大家系の検索を行い、累計3世代にわたり、親族12人中9人の糖尿病患者を含む糖尿病家族歴濃厚家系を見だし、血液検体および臨床データを収集し、継続して家系データ集積を進めている。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Taniguchi T, Kobayashi H, Nishikawa K, Iida E, Michigami Y, Morimoto E, Yamashita R, Miyagi K, Okamoto M. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in autoimmune pancreatitis. *Jpn. J. Radiol.* 27(3):138-142, 2009
2. 1. Taniguchi T, Hamasaki A, Okamoto M. Subclinical hypercortisolism in hospitalized patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr. J.* 55:429-432, 2008

3. 学会発表

1. 荒木美希、荒牧陽、池口絵理、谷口孝夫、岡本元純. 下肢皮膚感染症の治療中に、巨大肺動脈血栓症を発症した肥満2型糖尿病の一例. **第47回日本糖尿病学会近畿地方会**、2010年11月13日、大阪
2. 池口絵理、谷口孝夫、荒木美希、荒牧陽、岡本元純. 副腎静脈サンプリングで片側性コルチゾール過分泌と診断した両側副腎腫瘍の糖尿病症例. **第47回日本糖尿病学会近畿地方会**、2010年11月13日、大阪
3. 大倉朱美子、岡本三希子、山中康裕、岡本元純. 糖尿病教育入院患者のバウムテストに出現した「接木」表現の1例.

第53回日本糖尿病学会年次学術集会、
2010年5月27-29日、岡山

4. 谷口孝夫、荒巻陽、岡本元純. 糖尿病コントロール入院患者における無症候性心筋虚血のスクリーニング. **第53回日本糖尿病学会年次学術集会、** 2010年5月27-29日、岡山
5. 荒巻陽、谷口孝夫、岡本元純. 糖尿病教育入院後の血糖コントロール再悪化に関する検討. **第53回日本糖尿病学会年次学術集会、** 2010年5月27-29日、岡山
6. 岡本三希子、吉津久美子、澤村敦子、大倉朱美子、藤田和代、山根俊介、浜崎暁洋、岡本元純. 栄養指導開始後15年間の検証. **第13回日本病態栄養学会総会、** 2010年1月1月9-10日、京都
7. 岡本三希子、河部 純、戸津崎茂雄、川合一良、清水 聡、下河原えり、相田幸雄、松林英樹、小倉雅仁、山根俊介、岡本元純. 当院日常診療における病診連携の現状と問題点<糖尿病地域連携パス作成に向けた解析>. **第52回日本糖尿病学会、** 2009年5月21-24日、大阪
8. 岡本元純. 滋賀県下全医療機関を対象にした糖尿病実態調査—平成12年と18年の比較から—. **第52回日本糖尿病学会、** 2009年5月21-24日、大阪
9. 河部 純、相馬祐人、岡本三希子、戸津崎茂雄、川合一良、清水 聡、下河原えり、相田幸雄、松林英樹、小倉雅仁、山根俊介、岡本元純. 透析療法期にある糖尿病患者の救急症例. **第52回日本糖尿病学会、** 2009年5月21-24日、大阪
10. 谷口孝夫、岡本元純、小林久人. 自己免疫性膵炎および膵外病変におけるMR拡散強調画像の意義. **第90回日本消化器病学会近畿支部例会、** 2009年2月14日、大阪

11. 谷口孝夫、荒巻陽、岡本元純. IgG4関連硬化性疾患を合併した糖尿病の一例. **第45回日本糖尿病学会近畿地方会、** 2008年11月22日、大阪
12. 岡本元純. 滋賀県下全医療機関を対象にした糖尿病実態調査—平成12年と18年の比較から—. **第51回日本糖尿病学会、** 2008年5月22-24日、東京
13. 谷口孝夫、荒巻陽、岡本元純、浜崎暁洋. 2型糖尿病コントロール入院患者におけるSubclinical Hypercortisolismのスクリーニング. **第51回日本糖尿病学会、** 2008年5月22-24日、東京
14. 浜崎暁洋、谷口孝夫、荒巻陽、岡本元純、山根俊介、稲垣暢也. 2型糖尿病における血糖値コントロールの経過予測指標としての血中Cペプチドと遊離脂肪酸. **第51回日本糖尿病学会、** 2008年5月22-24日、東京
15. 外松哲彦、小原章央、安部純、戸津崎茂雄、川合一良、清水聡、下河原えり、相田幸雄、松林英樹、小倉雅仁、山根俊介、岡本元純、千葉勉、岡本三希子. 膵尾部形成不全を合併し、抗甲状腺および抗胃壁抗体が陽性であったSPIDDMの一例. **第51回日本糖尿病学会、** 2008年5月22-24日、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし