

Oct. 21, 2011

Symposium “Type 1 diabetes” Fulminant type 1 diabetes -is it a unique Asian Phenomenon? The 3rd Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes, Beijing, China, July 23, 2011.

徳永勝士

【国際】

Tokunaga K: Lessons from Genome-wide Search for Disease-Related Genes, The 20th Annual Conference of Korean Genome Organization, Gangoe-myeon, Korea, 2011.9.1-2.

Juji T and Tokunaga K: HLA and Population Genetics, 22nd Regional Congress of the ISBT, Taipei, 2011.11.21.

Tokunaga K: Revisiting HLA and diseases, The Third International Seminar of East-Asia Medical Genome Research Network, Seoul, 2011.12.03.

西田奈央

【国内】

小池麻子, 西田奈央, 吉田真希子, 井ノ上逸朗, 辻 省次, 徳永勝士

統合化推進プログラムにおける ヒトゲノムバリエーションデータベース

日本 DNA 多型学会 第 20 回学術集会  
2011.12 横浜

安田和基

【国内】 11 件

そのうち主なもの

浅原俊一郎、江藤博昭、照山杏子、小柳真希、渋谷由紀、松田友和、長嶋一昭、西村渉、安田和基、清野進、春日雅人、木戸良明「2 型糖尿病候補遺伝子 Kcnq1 遺伝子領域が膵β細胞に及ぼす影響の解析」第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会, 札幌, 5 月, 2011.

高橋枝里、岡村匡史、加納圭子、奥村彰規、久保田浩之、平野久、安田和基、鏑木康志「糖尿病モデル LEA/Sendai ラット血清のプロテオーム解析による新規糖尿病マーカーの提案」同上

安田和基「多因子疾患のゲノム解析の現状と展望～糖尿病を例にして～」Luminex テクノロジー：ガン・免疫・代謝研究を加速する Multiplex Assay とその応用、東京、6 月, 2011.

江藤博昭、浅原俊一郎、照山杏子、井上裕行、

小柳真希、渋谷由紀、松田友和、長嶋一昭、西村渉、安田和基、稲垣暢也、清野進、春日雅人、木戸良明「2 型糖尿病関連遺伝子 Kcnq1 領域の膵β細胞に及ぼす影響の検討」第 32 回日本肥満学会、淡路、9 月, 2011.

大澤春彦

【国内】

芝 真希、西田 互、相引真代、能美幸信、川村良一、中村 舞、高田康徳、大沼裕、牧野英一、大澤春彦

インスリン注射を契機に発症した 1 型糖尿病症例におけるインスリン抗体の質的变化

日本糖尿病学会 中国四国地方会第 49 回総会 2011 年 11 月 11、12 日、徳島

大沼 裕、牧野英一、今川彰久、藤山幹子、大澤春彦、小林哲郎、花房俊昭、1 型糖尿病調査委員会.

DIHS に伴い発症する劇症 1 型糖尿病の実態調査—本邦既報症例の調査—

(第 8 回 1 型糖尿病研究会 2010 年 10 月 10、11 日 長崎)

栗田卓也

【国内】 48 件

そのうち主なもの

山下富都、栗原進、森田智子、片山茂裕、栗田卓也、森圭介、米谷新、神田将和、仲地豊、岡崎康司、島田朗、丸山太郎、安田和基  
日本人 2 型糖尿病における糖尿病網膜症のゲノムワイド解析 (GWAS)

第 17 回日本糖尿病眼学会. 2011. 12. 東京  
栗田卓也、山下富都

1 型糖尿病の成因と予防 新しい展開と洞察 次世代シーケンス解析から見えること  
第 54 回日本糖尿病学会. 2011. 05. 札幌

栗田卓也. ゲノムワイド関連解析

(GWAS) で明らかになった SNP を含めた 1 型糖尿病感受性遺伝子の日本人における統合的解析. 糖尿病 53 (Suppl. 1): S-12, 2010

山下富都、栗田卓也ら. 次世代シーケンスを用いた 1 型糖尿病感受性遺伝子エクソン領域の日本人における多型解析. 第 8 回 1 型糖尿病研究会抄録集, p. 27, 2010

【国際】

Noguti Y, Oohori T, Hatano M, Awata T,

Katayama S  
Effect of a Combination of High-Dose  
Telmisartan with Hydrochlorothiazide on Home  
Blood Pressure in Patients Associated with  
Refractory Hypertension  
Fixed Combination 2011. 2011.12. フランス

Ito D, Inukai K, Takasi S, Ono H, Kurihara S,  
Katayama S, Awata T  
Regulation of Pibment Epithelium-Derived  
Factor(PEDF),an Insulin Resistance-inducing  
Adipocytokine,in 3T3-L1 adipocytes  
第4回 PREDIABETES and the METABOLIC  
SYNDROME. 2011.04. スペイン

Sumita T, ono H, Inukai K, Awata T, Katayama S  
Acute suppression of hypothalamic PTEN  
reduces food intake and improve insulin  
resistance  
Keystone Symposia. 2011.01. アメリカ

Awata T. Susceptibility genes to type 1 diabetes  
in Japanese. 8th International Diabetes  
Federation, Western Pacific Region Congress,  
2010 (Korea)

Awata T et al. Analysis of the HLA and non HLA  
susceptibility loci in Japanese type 1 diabetes.  
11th IDS 2010 congress, 2010 (Korea)

川崎英二

【国内】

清水一紀、加治屋 昌子、川崎英二、和栗雅  
子、穴澤園子、杉山 隆、平松祐司、中林正  
雄、大森安恵  
妊娠糖尿病の分娩後糖尿病発症におけるフ  
ォローアップの重要性  
第27回日本糖尿病・妊娠学会年次学術集会  
2011.11 神戸

坂中亜衣、高島美和、前山美和、山本広美、  
東るみ、篠崎彰子、川崎英二  
娠糖尿病（GDM）の診断基準と分娩後の糖尿  
病発症に関する検討  
第27回日本糖尿病・妊娠学会年次学術集会  
2011.11 神戸

川崎英二、赤澤 諭、植木郁子、中村 寛、堀  
江一郎、厨 源平、佐藤 剛、古林正和、桑  
原宏永、阿比留教生、山崎浩則、江口勝美：  
GAD抗体陽性NIDDMにおける進展予知マー  
カーの検討. 第53回日本糖尿病学会年次学術  
集会、岡山市、2010

川崎英二、村田芙美、赤澤 諭、植木郁子、中  
村 寛、堀江一郎、厨 源平、古林正和、桑  
原宏永、山崎浩則、阿比留教生：1 型糖尿病

における亜鉛トランスポーター8（ZnT8）抗  
体の検討. 第48回日本糖尿病学会九州地方会、  
別府市、2010

川崎英二：1 型糖尿病の遺伝因子と臍島抗原・  
自己抗体. 第45回糖尿病学の進歩、福岡市、  
2011

【国際】

Kawasaki E  
Clinical Utility of Anti-Islet Autoantibodies～  
Diagnosis and Prediction of Type 1 Diabetes in  
East Asia～  
16th Japan-Korea Symposium on Diabetes  
Mellitus Urayasu 2011. Oct.

Kawasaki E, Yasui J, Morokuma H, Ikeoka T,  
Murata F, Akazawa S, Ueki I, Nakamura K,  
Kobayashi M, Kuwahara H, Abiru N, Yamasaki  
H, Kawakami A  
Different kinetics of autoantibodies to insulin  
granule membrane autoantigens, IA-2 and ZnT8,  
after clinical onset of type 1 diabetes  
16th Japan-Korea Symposium on Diabetes  
Mellitus Urayasu 2011. Oct.

Kawasaki E, Nakamura K, Kuriya G, Satoh T,  
Kobayashi M, Kuwahara H, Abiru N, Yamasaki H,  
Matsuura N, Miura J, Uchigata Y, Eguchi K : Zinc  
transporter 8 autoantibodies in patients with three  
forms of Japanese type 1 diabetes. The 70th  
American Diabetes Association Scientific Sessions、  
米国、2010

Kawasaki E, Nakamura K, Kuriya G, Kobayashi M,  
Kuwahara H, Abiru N, Yamasaki H, Matsuura N,  
Miura J, Uchigata Y : Differences in the humoral  
autoreactivity to zinc transporter 8 between  
childhood- and adult-onset type 1 diabetes in J  
apanese patients. 11th International Congress of  
the Immunology of Diabetes Society (IDS-11)、  
韓国、2010

島田朗

【国内】 19件

そのうち主なもの

及川洋一(東京都済生会中央病院 内科)、島田  
朗、山田善史、服部豊、武田裕子、渥美義仁  
1 型糖尿病患者における末梢血 CXCR3 陽性  
制御性 T 細胞分画の検討  
第54回 日本糖尿病学会年次学術集会  
2011年5月19～21 札幌

税所芳史(慶応義塾大学 医学部腎臓内分泌代  
謝内科)、侯金成、田中久美子、阿部貴行、島  
田朗、河合俊英、伊藤裕

2 型糖尿病におけるインスリン療法導入の予測因子に関する検討  
第 54 回 日本糖尿病学会年次学術集会  
2011 年 5 月 19～21 札幌

鈴木竜司, 島田朗.  
78歳の後期高齢者に発症した劇症1型糖尿病の1例.  
第47回日本糖尿病学会関東甲信越地方会  
2010.1 大宮

多田愛, 島田朗, 山田善史, 及川洋一, 伊藤裕, 山田健人.  
ウイルス感染をtriggerとする自己免疫性糖尿病.  
perforin/granzyme Bを介した膵島傷害の可能性.  
第53回日本糖尿病学会年次学術集会 2010.5 岡山

及川洋一, 島田朗, 山田善史, 大久保佳昭, 鳴原寿一, 成見正作, 伊藤裕.  
DNAワクチンによる自己免疫性糖尿病の寛解過程におけるHybrid Tregの関与.  
第53回日本糖尿病学会年次学術集会 2010.5 岡山

会田薫, 西田頼子, 田中昌一郎, 丸山太郎, 島田朗, 小林哲郎.  
1型糖尿病の新しい展開 1型糖尿病の膵病変  
劇症1型糖尿病と緩徐進行1型糖尿病の対比から.  
第53回日本糖尿病学会年次学術集会 2010.5 岡山

永田正男 (平成22年度分担研究者)

【国内】

佐々木弘智、森山啓明、清水まみ、中村 晃、荒井隆志、来住 稔、濱田水鈴、奥町恭代、安田尚史、原 賢太、永田正男、横野浩一  
膵β細胞mTORC1経路活性化によるNODマウス糖尿病発症に対する影響  
第53回日本糖尿病学会総会 2010.5.29 (岡山)

佐々木弘智、森山啓明、安田尚史、清水まみ、中村 晃、荒井隆志、原 賢太、永田正男、横野浩一  
膵β細胞におけるRheb過剰発現によって誘導されるmTORC1経路活性化がNODマウスに及ぼす影響  
第8回1型糖尿病研究会 2010.10.10 (長崎)

H. 知的所有権の出願・取得状況

- 1) 特許取得  
なし
- 2) 実用新案登録  
なし
- 3) その他  
なし

### Ⅲ. 分担研究報告

平成 22・23 年度 分担研究まとめ

分担課題名	劇症 1 型糖尿病の診断マーカー同定と診断基準確立に関する研究： 発現解析の実施
氏名	小林哲郎
所属機関名	山梨大学大学院医学工学研究部. 第三内科
<p>要旨：発症直後の劇症 1 型糖尿病 (FT 1 D) 患者剖検膵において Enterovirus 感染時の innate immunity に関し検討したところ、膵 β 細胞にウイルスセンサーである RIG-I, MDA5 さらに LGP2 が強発現し、IFN-α, MHC-class1 分子が発現していた。また CXCL10, IL-18, IFN-γ も発現がみられた。FT1D 患者血中 IFN-γ 濃度も上昇していた。本疾患の発症に自然免疫の関与が示唆された。</p> <p>目的：エンテロウイルスによる劇症 1 型糖尿病の自然免疫に関係するカスケードにつき検討した。</p> <p>方法：我々がすでに報告した FT1D 患者の剖検膵を用いて、β 細胞における innate immune receptor との下流のマーカーにつき検討した。なお、本研究は山梨大学医学部倫理委員会の承認を得ておこなわれた。</p> <p>結果：3 例の FT1D 患者の β 細胞には、enterovirus が感染し、innate immunity の受容体である RIG-I, MDA5 さらには LGP2 が強く発現していた。膵島細胞には IFN-α, -β 1, MHC-class1 が発現していた。さらに cytokine の IFN-γ, IL-18, chemokine の CXCL10 が β 細胞に共発現していた。CD11c+樹状細胞が β 細胞を貪食する所見が認められた。免疫調節性の T 細胞 (Treg) は、膵島の中および周囲には認められなかった。β 細胞は、Fas を発現し、Fas-ligand 陽性細胞が、膵島に浸潤していた。Caspase-8, -9 および、-3 が β 細胞に特異的に発現し、apoptosis の像を呈していた。FT1D 患者の末梢血中 IFN-γ は健常者の約 3 倍増加していた。</p> <p>考察：FT1D は、多くの場合ウイルス感染症によって惹起されるが、その最初のステップは RIG-I, MDA5, さらに LGP2 であることが明らかとなった。さらにこのような受容体を経て、1 型インターフェロンの産生が促進され、さらに樹状細胞の活性化、MHC class1 の発現が起こることが明らかとなった。その結果、自己免疫的機序が亢進し、CXCL10, IFN-γ, IL-18 が β 細胞に発現することによって、Fas-FasL 経路およびその他の経路を経て、β 細胞のアポトーシスに至ることが明らかとなった。また Treg の機能も、低下しているため T 細胞による β 細胞の破壊が急速にする進行する可能性も示唆された。FT1D 患者の血中 IFN-γ 濃度を測定することにより、β 細胞の破壊速度が推定できる可能性も示唆された。</p>	

平成 22・23 年度 分担研究まとめ

分担課題名	劇症 1 型糖尿病の疾患感受性遺伝子解析と診断への展開
氏 名	池上博司
所属機関名	近畿大学医学部 内分泌・代謝・糖尿病内科
<p>要旨：</p> <p>劇症 1 型糖尿病の成因・病態の解明ならびに診断マーカー確立を目的として、ランダムマーカーアプローチ（ゲノムワイド関連解析）による疾患感受性遺伝子の同定・解析を進めた。90 万 SNP による一次スクリーニングの結果、ゲノムワイドの有意水準で関連を示したのは HLA のみであった。ゲノムワイドの有意水準は満たさないが疾患との関連が示唆される SNP に関して二次パネルによる replication study、imputation、HLA 層別解析、欧米 GWAS で同定された候補遺伝子の解析を行った結果、複数の新規候補遺伝子マーカーが抽出された。二次パネルで関連が再現されたものに関して三次パネルで検証を進めた。</p> <p>研究目的：</p> <p>劇症 1 型糖尿病の成因・病態の解明ならびに診断マーカー確立を目的として、昨年度報告した候補遺伝子アプローチによる HLA 領域の詳細解析に加えて、ランダムマーカーアプローチ（ゲノムワイド関連解析）による疾患感受性遺伝子の同定・解析を進めた。</p> <p>研究方法</p> <p>【対象】日本糖尿病学会劇症型糖尿病調査委員会による診断基準を用いて全国調査した劇症 1 型糖尿病患者、自己免疫性 1 型糖尿病患者（急性発症典型例、緩徐進行 1 型糖尿病）および健常対照者を対象とした。</p> <p>患者群：1332 名、対照群 998 名          一次パネル：患者 396 名（劇症 97、急性発症 203、緩徐進行 96）、対照 200 名          二次パネル：患者 438 名（劇症 117、急性発症 207、緩徐進行 114）、対照 357 名          三次パネル：患者 498 名（小児急性発症典型例）、対照 457 名</p> <p>【方法】一次パネルを対象として、Affymetrix 社製 SNP Array 6.0 アレイ（全ゲノムにわたる 90 万個の一塩基多型: SNPs）を用いて遺伝子型を決定、解析した（解析センター：東京大学遺伝学教室、分担研究者 徳永・西田）。一次パネルでゲノムワイドの有意水準には達しないが関連が示唆された SNP (<math>P &lt; 1 \times 10^{-4}</math>)、P 値においては上記有意水準をやや下回るが機能的に関連すると予想される遺伝子を追加した 623 の SNP に関して DigiTag2（東京大学人類遺伝学解析センター）を用いた二次パネル解析を行った。二次パネルで有意の関連が再現された 26SNP を三次パネルでの確認解析に供した。</p>	

これと並行して更なる遺伝マーカーを同定する目的で、一次パネルの GWAS データに関して imputation、HLA 層別解析、欧米 GWAS で同定された候補遺伝子の解析を行い、新たな候補 SNP を抽出、二次パネルでの再現性解析に供した。

### C. 研究結果

一次パネルを用いた全ゲノム関連解析を行った結果、HLA領域に存在する複数の SNP が最も低いP値を示し ( $P < 1 \times 10^{-26}$ )、一次スキャンのみでゲノムワイドの有意水準を満たした。HLA以外の領域に関しては一次スキャン単独でゲノムワイドの有意水準 ( $P < 7.7 \times 10^{-8}$ ) を満たす SNP は存在しなかった。ゲノムワイドの有意水準には達しないが関連が示唆される SNP として抽出した全 623 SNP のうちで散布図に問題のなかった 606 SNP に関して二次パネル解析を行い、26 SNP において有意の関連が再現された。これらのうちで関連の特に強かった 2 つの SNP に関して三次パネルで検証解析を行ったが関連が再現されなかったことから、他の SNP について順次検証を進めている。

これと並行して一次パネルの GWAS データに関して imputation、HLA 層別解析、欧米 GWAS で同定された候補遺伝子の解析を行い、追加のマーカーの抽出を進めた結果、複数のマーカーが新たに抽出されるとともに、欧米で関連が報告されている IL2RA が関連を有することが示唆された。これらに関しても replication, confirmation の解析を進めている。

### D. 考察

1 型糖尿病発症頻度の低いアジア系人種においては症例数に限りがあることからゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行うことは容易でない。このため、これまでの GWAS に関する報告は欧米の 2 グループからのものに集約されており、両者間では一部サンプルの重複も認められている。関連が認められた遺伝子座の微細マッピングならびに遺伝子本体の同定はこれら欧米のサンプルだけでは必ずしも容易ではなく、これを解消するために遺伝背景・連鎖不平衡が異なる人種における GWAS が不可欠である。アジア系人種では世界初となる今回の GWAS 研究は、この点で極めて重要であり、表現型・連鎖不平衡などの点で欧米とは大きく異なる日本人における解析結果が世界の 1 型糖尿病遺伝子研究をも大きく前進させることが期待される。特に、劇症 1 型糖尿病は欧米では極めて稀な疾患で、日本における症例登録が諸外国とは比較にならないほど進んでいることから、劇症 1 型糖尿病の GWAS は我が国においてのみ実現可能な画期的プロジェクトである。本研究の結果、HLA 領域の複数の遺伝マーカーが一次パネルの GWAS でゲノムワイドの有意水準を満たし、日本人で最も強い 1 型糖尿病疾患感受性遺伝子が HLA であること、遺伝マーカーとして最も重要であることがゲノムワイドのレベルで確認された。また、欧米の GWAS で関連が報告されている SNP のうちでは IL2RA 遺伝子領域の SNP が日本人でも関連を示すことが示唆された。これ以外のマーカーに関しては複数の SNP

で再現性が確認されているが、厳しいゲノムワイドの有意水準をクリアするまでには至っておらず、三次パネルでの検証解析の結果を待つ必要がある。各サブタイプと真に関連を示す SNP の同定を完結することにより、劇症 1 型糖尿病の成因・病態・診断解明に大きく貢献することが期待される。

#### E. 結論

ゲノムワイド関連解析の結果、劇症 1 型糖尿病と最も強く関連を示す疾患感受性遺伝子は HLA 領域に存在すること、これに匹敵する遺伝子は HLA 以外には存在しないことが示された。ゲノムワイドの有意水準は満たさないが疾患との強い関連が示唆される SNP が HLA 以外の領域に複数見いだされ、これらのうちいくつかは二次パネルにおいても関連が再現された。これらが真の疾患感受性遺伝子であること証明すべく、三次パネルでの検証を進めている。劇症 1 型糖尿病は他のサブタイプと同様に HLA との関連が最も強い反面、他の遺伝子に関しては異なる SNP が関連を示すことが示唆されたことから、1 型糖尿病のサブタイプ間に遺伝的な共通性と異質性が存在することが示された。共通性の解析から 1 型糖尿病全般の根本に関わるメカニズムの解明、異質性の解析から劇症 1 型糖尿病特異的なメカニズムの解明とマーカーの同定、予知・予防への展開が期待される。



分担課題名	劇症 1 型糖尿病の診断マーカー同定
氏 名	今川彰久
所属機関名	大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科学
<u>遺伝子診断マーカーの測定</u>	
<p>HLA-DR, HLA-DQ 遺伝子型を測定し、遺伝子診断マーカーとしての感度、特異度を明らかにした。劇症 1 型糖尿病 207 名。健常者 325 名を対象とした。</p> <p>その結果、劇症 1 型糖尿病においては、<i>DRB1*04:05-DQB1*04:01</i> のハプロタイプが最も高頻度で 103 名 (50.2%) に認められた。このハプロタイプは健常人では 84 名 (25.8%) において認められた。したがって、遺伝子マーカー <i>DRB1*04:05-DQB1*04:01</i> は感度 50.2%、特異度 74.2%、陽性的中率 55.3%、陰性的中率 70.1% であった。さらに <i>DRB1*04:05-DQB1*04:01</i> をホモで有する場合には感度 15.0% と低下したが、特異度は 97.5% と向上し、陽性的中率 79.5%、陰性的中率 64.3% も高値であった。他の遺伝子型では、<i>DRB1*09:01-DQB1*03:03</i> のみが劇症 1 型糖尿病において有意に高頻度で 83 名 (40.1%) に認められた。このハプロタイプは健常人では 85 名 (26.2%) において認められた。したがって、遺伝子マーカー <i>DRB1*09:01-DQB1*03:03</i> は感度 40.1%、特異度 73.8%、陽性的中率 49.4%、陰性的中率 65.9% であった。<i>DRB1*09:01-DQB1*03:03</i> をホモで有する場合には感度 10.6% と低値であったが、特異度は 98.8% と高値であり、陽性的中率 84.6%、陰性的中率 63.4% も高値であった。さらに、<i>DRB1*04:05-DQB1*04:01</i> ハプロタイプと、<i>DRB1*04:05</i> 単独とを比較した。後者では感度は、50.2%、特異度 74.5%、陽性的中率 55.6%、陰性的中率 70.1% とほぼ同様の値が得られた。このように遺伝子マーカーは、十分な症例数を用いて検討することができたが、診断基準に組み入れる際の特異度には優れているものの、感度において十分ではないことが明らかになった。また、DR 座のみでも DR-DQ ハプロタイプに劣らない感度／特異度が得られることから、費用面を考慮すれば、DR 座のみの検討で十分であると考えられた。</p>	
<u>リンパ球診断マーカーの測定</u>	
<p>患者末梢血より単核球を分離し、CD4+T 細胞中の CTLA-4 陽性細胞の割合を測定した。また、同じ対象について CTLA-4 遺伝子の CT60 多型を検討した。陽性細胞比率と遺伝子多型の組み合わせにより、診断の感度及び特異度が上昇する否かを検討した。対象は、劇症 1 型糖尿病患者 11 名、対照として健常者 15 名、急性発症 1A 型糖尿病 12 名で、末梢血 CD4+T 細胞を用い、CTLA-4 の発現を解析した。陽性細胞比率のカットオフ値を 10% とした場合、陽性患者は劇症 1 型糖尿病患者 10 名、健常者</p>	

4名であった。この場合、感度 90.9%、特異度 73.3%、陽性的中率 71.4%、陰性的中率 91.7%と良好な値を示した。CTLA-4CT60 遺伝子多型を検討したが、劇症 1 型糖尿病で高頻度であることが報告されている AA 型は、今回の対象では、劇症 1 型糖尿病患者 0 名 (0%)、健常者 2 名 (15.4%) で認めるのみであり、末梢血 CD4+T 細胞における発現と遺伝子型を組み合わせても、診断の感度、特異度の向上は認められなかった。一方、急性発症 1A 型糖尿病においては同様のカットオフ値を設定した場合、陽性患者は 3 名であった。したがって、劇症 1 型糖尿病との鑑別において、感度 90.9%、特異度 75.0%、陽性的中率 76.9%、陰性的中率 90.0%と良好な値を示した。

### 総合考察

候補分子の診断マーカーとしての感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率を検討した。その結果、遺伝子マーカー「HLA-DR/DQ」が特異度と陽性的中率で優れており、リンパ球マーカー「CD4 陽性 T リンパ球における CTLA-4 発現」が感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率いずれも優れていることが明らかになった。ともに診断マーカーとして有用であると考えられたが、遺伝子マーカーは特に費用において、リンパ球マーカーは簡便性において問題を有しており、今後解決すべき課題と考えられた。

#### (倫理面への配慮)

本研究の施行に関しては日本糖尿病学会倫理委員会の承認を得、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 13 年 3 月 29 日策定、平成 16 年 12 月 28 日全部改正、平成 17 年 6 月 29 日一部改正)、疫学研究に関する倫理指針 (平成 14 年 6 月 17 日策定、平成 16 年 12 月 28 日、平成 19 年 8 月 16 日全部改正)、臨床研究に関する倫理指針 (平成 15 年 7 月 30 日策定、平成 16 年 12 月 28 日、平成 20 年 7 月 31 日全部改正) 及び申請者が所属する研究機関で定めた倫理規定等を遵守した。

平成 22・23 年度 分担研究まとめ

分担課題名	GWAS の実施
氏 名	徳永勝士 西田奈央
所属機関名	東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野 国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター
<p><b>【要旨】</b>  劇症 1 型糖尿病患者群 97 名、健常対照群 184 名および自己免疫性 1 型糖尿病患者群 299 名（うち、急性発症 203 名、緩徐発症 96 名）を対象としたゲノムワイド関連解析により検出された合計 606 種類の SNP を対象とした Replication study を実施した。2 次パネル（1 型糖尿病患者群合計 451 検体、健常対照群 357 検体）を用いて、全 606 SNPs の SNP タイピングが終了し、そのうちタイピングに成功した 572 SNPs を対象とした統計解析を実施した。2 次パネルを用いた Replication 解析の結果、有望な遺伝領域として 28 SNPs を検出した。</p> <p><b>【目的】</b>  本研究では、ゲノムワイド関連解析（GWAS）を中心として、劇症 1 型糖尿病の病因・病態の鍵となる分子の同定を目指し、臨床指標とともに SNP および診断マーカー候補を用いた特異的な診断基準を作成することを目的とする。</p> <p><b>【方法】</b> 本研究では、まずゲノムワイド関連解析により候補遺伝子領域を検出し、引き続いて 2 次パネルを用いた再現性検討（Replication study）を実施することにより、疾患感受性遺伝子の同定を目指す。</p> <p><b>【結果】</b>  DigiTag2 法による全 606 SNPs のタイピングが終了し、606 SNPs のうち 572 SNPs を対象とした統計解析を実施した。1 次パネルと 2 次パネルを用いた統計解析の結果、劇症 1 型糖尿病の発症と関連する有望な遺伝子領域（<math>P &lt; 10^{-4}</math>）から合計 8 SNPs を検出した。また、急性発症 1 型糖尿病および緩徐発症 1 型糖尿病の発症と関連する有望な遺伝子領域からもそれぞれ 13 SNPs、7 SNPs を検出した。全 28 SNPs の有望な関連を示した遺伝子領域のうち、7 SNPs を対象として 3 次パネルでの解析を TaqMan 法で実施したが、再現性は確認されなかった。</p> <p><b>【考察】</b>  統計解析を実施した全 572 SNPs のうち、劇症 1 型糖尿病の発症と関連する有望な遺伝子領域から 8 SNPs、また、急性発症 1 型糖尿病および緩徐発症 1 型糖尿病の発症と関連する有望な遺伝子領域からもそれぞれ 13 SNPs、7 SNPs を検出した（<math>P &lt; 10^{-4}</math>）。有望な関連</p>	

を示した全 28 SNPsのうち、7 SNPsを対象として3次パネルを用いた解析を実施したものの、再現性は確認されなかった。現段階では、新たな診断マーカーを同定できていないものの、残る 21 SNPsの候補SNPsを対象としたReplication解析を継続することが必要であると考えられる。

GWASにおける単点解析の結果から選択した全 606 SNPsについて、2次パネルまでの解析を終了したものの、新規の診断マーカーを同定するには至っていない。Imputation解析やHLA層別化解析などの新しい解析手法を取り入れ、網羅的なゲノム解析を実施することで、これまでは検出できなかった新たな候補遺伝子領域を選択した。これらのSNPsで再現性が確認されれば、Replication解析に持ち込むSNPの新たな選択方法として確立することが期待される。

分担課題名	GWAS 結果の解析及びサイトカイン測定に関する研究
氏名	安田 和基
所属機関名	独立行政法人 国立国際医療研究センター
<p><b>【要旨】</b></p> <p>劇症 1 型糖尿病のゲノムワイド関連解析 (GWAS) の 1 次スクリーニングの上位 SNP について、アジア人 2 型糖尿病 GWAS のデータと比較して検討したが、少なくとも遺伝子ベースでは、明らかな類似性は認めなかった。また、血清試料を用いた、サイトカインや糖代謝・肥満関連ホルモンの多項目同時測定系の有用性を確認した。ゲノム解析、バイオマーカー探索ともに、アジア人という人種特異性を考慮する必要性が明らかになった。</p> <p><b>【目的】</b></p> <p>膵β細胞の急激な破壊により生じる劇症 1 型糖尿病と、膵β細胞障害が長期にわたって進展する日本人 2 型糖尿病との間に成因上の共通点が認められる可能性を考え、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) による遺伝因子を比較する。また成因解析およびバイオマーカー探索の点から、血中のサイトカインや代謝関連ホルモンのプロファイルを包括的に測定する多項目同時測定系の有用性および課題を検討する。</p> <p><b>【方法】</b></p> <p>劇症 1 型糖尿病については、約 100 人を対象にアフィメトリクス社 SNP 6.0 アレイを用いて GWAS を行った。2 型糖尿病については、分担研究者が関与した、ミレニアムプロジェクト (Yasuda et al, Nat Genet 2008、及び GeMDBJ データベース) と第二期バイオバンクジャパン (Yamauchi et al, Nat Genet 2010)、及び東アジア人での 8 つの GWAS のメタ解析 (Cho et al, Nat Genet 2011) の結果を用いた。多項目同時測定系としては、Luminex 法を用いたビーズによる測定系を採用した機器として、バイオラッド社の BioPlex200 および BioPlex 3D システムを用い、試薬は同社ヒトサイトカインキット、及び糖代謝・肥満関連ホルモンを測定するキット (Bio-Plex Pro Human Diabetes Assay Panel) を使用して、約 200 人の血清で検討した。</p> <p><b>【結果】</b></p> <p>劇症 1 型糖尿病の GWAS では、ゲノムワイドの有意水準を満たす遺伝子は認めなかったが、いくつかの条件を設定して追加解析を行う SNP を遺伝子レベルで 43 ほど抽出した。しかし、2 型糖尿病で報告された遺伝因子のオーバーラップは認めなかった。ただし GWAS の統計学的有意水準は、きわめて厳しく、個々の効果が弱い多因子疾患の遺伝因子を見逃す可能性があり、今後は有意水準を少し下げ、遺伝子機能等と合わせて吟味する方法を併用しなくてはならないだろう。Luminex 法を用いた解析では、血清 15-30uL</p>	

からそれぞれ 18 項目（サイトカイン）、12 項目（代謝ホルモン）の血中濃度を良好に測定できた。また同一人でも経時的に変化がみられるなど、病態評価や治療効果の判定、個別化医療へ応用できる可能性も示唆された。特に代謝系ホルモンは、個人差もダイナミックレンジも大きく、当初発売されていたキットでは、日本人では測定下限以下になってしまう試料がかなりみられたが、改良バージョンでは、インスリンの測定可能範囲が拡大され有用性が増していた。

#### 【考察】

GWAS について、現在汎用されている SNP セットは主に白人の SNP 頻度や連鎖不平衡ブロック構造のデータに基づいており、アジア人の疾患感受性 SNP を見落とす可能性がある。最近発売された、アジア人ゲノムに最適化されたプラットフォームによる解析も今後期待される。また、多項目測定系で、血清インスリンで測定下限以下が多かったのは、キットがインスリン抵抗性と代償性のインスリン分泌亢進が見られる白人に最適化されていたためと思われる。ただし、劇症 1 型糖尿病では特にインスリンが欠乏するため、既存バージョンでも血清インスリンは最終的にはやはり別途個別に測定を準備すべきだと考えられた。

このようにゲノム解析、タンパク・バイオマーカー解析のいずれにおいても、人種の特性を加味した解析系の重要性が明らかになった。遺伝因子や、糖代謝ホルモン、サイトカインなどを組み合わせることにより、劇症 1 型糖尿病の病態や予後の診断に役立つマーカーが抽出できる可能性があり、今後の発展が期待される。

平成 22・23 年度 分担研究まとめ

分担課題名	診断基準の作成、候補 SNP の検証
氏 名	大澤 春彦
所属機関名	愛媛大学大学院医学系研究科分子遺伝制御内科学
<p><u>要旨</u></p> <p>DIHS (薬剤過敏症症候群)に伴い発症した劇症 1 型糖尿病 15 症例の調査解析を行った。HHV6 ウイルス感染との関連が大半に認められ、劇症 1 型糖尿病の発症に、HHV6 感染が関与することが示唆された。劇症 1 型糖尿病および 2 型糖尿病のプール血清を用いて、自己抗体のスクリーニングを行った。両血清のいずれにおいても、複数の自己抗体の候補を認めた。</p> <p><u>目的</u></p> <p>劇症 1 型糖尿病の成因としての自己免疫の関与を解明する。</p> <p><u>方法</u></p> <p>DIHS (薬剤過敏症症候群)に伴い発症した劇症 1 型糖尿病の既報告例 (学会発表、症例報告) についてアンケート調査を行った。コムギ無細胞タンパク合成系を用いて作成したタンパク質ライブラリーとAlphaScreen法を組み合わせた高感度抗原抗体反応検出系を用いて、劇症 1 型糖尿病および 2 型糖尿病のプール血清中の自己抗体のスクリーニングを行った。</p> <p><u>結果</u></p> <p>15 症例のアンケート調査の結果、HHV6 が 11 名に、CMV が 4 名に抗体または DNA で陽性を認めた。臍島自己抗体を認めた症例はなかった。1 型糖尿病感受性 HLA DR4 を 5 名、DR9 を 1 例に認めた。</p> <p>約 2000 種類の抗原からなるライブラリーをスクリーニングした結果、劇症 1 型糖尿病プール血清、2 型糖尿病プール血清のいずれにおいても、複数の自己抗体の候補が認められた。</p> <p><u>考察</u></p> <p>DIHS に伴い発症した劇症 1 型糖尿病症例は、伴わない劇症 1 型糖尿病症例と臨床的に類似していた。</p> <p>劇症 1 型糖尿病患者、2 型糖尿病患者のプール血清中に、複数の自己抗体の候補が認められた。</p> <p><u>結論</u></p> <p>劇症 1 型糖尿病の発症に、HHV6 感染が関与することが示唆された。</p> <p>劇症 1 型糖尿病患者プール血清中に、自己抗体が存在する可能性が示唆された。</p>	

平成 22・23 年度 分担研究まとめ

分担課題名	1 型糖尿病の遺伝子因子の研究
氏 名	栗田 卓也
所属機関名	埼玉医科大学医学部
<p>【要旨】 1 型糖尿病の遺伝因子として HLA(<i>DRB1, DQB1</i>) および非 HLA(<i>INS, CTL4, IL2RA, ERBB3, CLEC16A, IL7R, IFIH1</i>)の統合的解析を行い、非 HLA は臨床的多様性に影響するが、その関連は全体でも HLA よりもかなり弱いことを明らかにした。また、次世代シーケンスを用いた変異解析を 1 型糖尿病候補遺伝子について行い、アミノ酸置換を伴う変異を多数同定し、多施設共同研究により 1 型糖尿病との関連の検討を進めている。今後、次世代シーケンスによるエクソーム解析も進める予定である。</p> <p>【目的】 1 型糖尿病の成因を解明するために、遺伝因子の解析を行う。</p> <p>【対象】 多施設共同研究として 1 型糖尿病およびコントロールを収集。</p> <p>【方法】</p> <p>①血液から抽出した DNA に対して、TaqManSNP などにより、1 型糖尿病感受性 SNP などの解析を行った。</p> <p>②当科の 1 型糖尿病 96 症例と健常コントロール 96 例について Illumina Genome Analyser II x による次世代シーケンス解析を行った。多数例について、得られた変異の一部を TaqMan 法により決定し、1 型糖尿病との関連を検討した。</p> <p>【結果】</p> <p>①非 HLA 遺伝子(<i>INS, CTL4, IL2RA, ERBB3, CLEC16A, IL7R, IFIH1</i>)の総合的な効果は HLA(<i>DRB1, DQB1</i>)と比較してかなり弱く、発症予測モデルへの寄与はあまりなかった。さらに、発症様式や甲状腺自己免疫合併などの臨床的多様性にこれらの感受性遺伝子の一部が関連していた。</p> <p>②24 遺伝子の次世代シーケンスによる解析では、アミノ酸置換を伴う nsSNP が合計 57 個以上同定され、そのうちの 6 割以上が rare variant であった。2 遺伝子 (<i>IFIH1</i>、遺伝子 X) について、検出された rare variant の関連解析を施行中である。単独で有意差を認めたものはなかったが、<i>IFIH1</i> では OR が 1 以下となる傾向であったが有意差は認めていない、遺伝子 X では 4 つの rare variant がやはり OR が 1 以下であり、1 つの variant について有意差を認めた。</p> <p>【考察】日本人 1 型糖尿病における HLA および非 HLA 感受性遺伝子の役割を総合的に明らかにした。さらに、日本人 1 型糖尿病における、次世代シーケンスの 1 型糖尿病疾患感受性遺伝子の解析における有用性と今後の課題を明らかにした。今後、次世代シーケンスによるエクソーム解析も進める予定である。</p>	



平成 22・23 年度 分担研究まとめ

分担課題名	1 型糖尿病の診断マーカーに関する研究
氏 名	川崎英二
所属機関名	長崎大学病院 生活習慣病予防診療部
<p>【目的】 劇症 1 型糖尿病および古典的 1 型糖尿病の新たな診断マーカーとして ZnT8 抗体を中心に検討した。</p> <p>【方法】 対象は、発症早期劇症 1 型糖尿病 85 例および古典的 1 型糖尿病 114 例である。ZnT8 抗体は、325 番アミノ酸の 2 つの異型（325R、325W）および 325R-325W のハイブリッド分子を用いて検討し、従来の膵島関連自己抗体（GAD 抗体、IA-2 抗体、インスリン自己抗体（IAA））も同じサンプルにおいて測定した。</p> <p>【結果】 劇症 1 型糖尿病における陽性率は、GAD 抗体 9%、IA-2 抗体 4%、IAA 6%であったが、ZnT8 抗体は検出されなかった。一方、古典的 1 型糖尿病ではそれぞれ 82%、58%、55%であり、50%が ZnT8 抗体陽性であった。さらにこの 4 つの膵島関連自己抗体を組み合わせて解析すると、劇症 1 型糖尿病の 18%、古典的 1 型糖尿病の 94%がひとつ以上の自己抗体が陽性であった。</p> <p>また、古典的 1 型糖尿病の発症様式別に ZnT8 抗体の陽性率を検討すると、急性発症 1 型糖尿病で 58%、緩徐発症型で 20%と急性発症型で有意に高率であった。さらに、発症年齢 ≤ 10 歳の若年発症例において 77%と高率であった。一方、ZnT8 抗体 epitope の解析では、以前より報告されている重要な epitope である 325 番目のアミノ酸以外にも epitope が存在し、325 番目のアミノ酸以外の epitope を有する患者は若年発症例に多かった。</p> <p>【考察】 本研究により、ZnT8 抗体が急性発症 1 型糖尿病の有用な診断マーカーであること、および発症年齢により ZnT8 に対する液性免疫が異なっていることが明らかになった。急性発症 1 型糖尿病において緩徐発症型に比べ ZnT8 抗体が高率に検出されたことは、ZnT8 抗体が 1 型糖尿病における膵島 β 細胞破壊のスピードを反映していることが示唆された。一方、ZnT8 抗体の epitope のひとつである 325 番目のアミノ酸（R または W）以外にも重要な epitope が存在しており、325 番目のアミノ酸非拘束性 epitope（非拘束性 epitope）が存在し、この epitope を有する患者が有意に若年発症例に多いことから、非拘束性 epitope が早期発症に関連があることが推定された。</p> <p>また、劇症 1 型糖尿病の 18%に膵島関連自己抗体が検出されたが、ZnT8 は全例で陰性であった。さらに膵島関連自己抗体陽性の劇症 1 型糖尿病患者はほとんどが単独陽性であり、自己抗体出現パターンは古典的 1 型糖尿病と明らかに異なっていたことから、これが膵島自己免疫を反映しているか否かについては、さらなる検討が必要である。</p>	

分担課題名	劇症 1 型糖尿病の診断マーカー同定と診断基準確立
氏 名	島田 朗
所属機関名	慶應義塾大学医学部内科 講師
<p><b>研究要旨</b></p> <p>1 型糖尿病の大部分は、T 細胞を主体とするリンパ球浸潤が膵島に認められることから、細胞性免疫異常が関与していると考えられているが、臨床の現場では、そのような細胞性免疫異常を的確に検出する方法が確立しておらず、専ら膵島に関連する自己抗原（GAD、インスリンなど）に対する自己抗体の検出に終始しているのが現状である。しかしながら、自己抗体の抗体価が必ずしも疾患活動性を規定しているわけではないことから、細胞性免疫異常の検出が求められている。</p> <p>われわれは、細胞内サイトカイン染色のシステムを用いて抗原特異的な T 細胞の反応性を検出する方法を試み、劇症 1 型糖尿病を始めとする 1 型糖尿病患者において GAD 反応性の IFN<math>\gamma</math> 産生 CD4 細胞（T-helper1 細胞）が検出されることを見出した。さらに、ELISPOT 法による抗原特異的 T 細胞反応の検出法についても確立し、1 型糖尿病における主要抗原であるインスリンペプチドに対する反応性を検出することに成功した。また、主要な T-helper1 細胞の表面上に発現している CXCR3 をマーカーとして、それを有する免疫制御性 T 細胞についても詳細に検討するとともに、攻撃因子である effector 細胞（CD25 陰性 CD4 細胞）についても検討した。</p> <p><b>研究目的</b></p> <p>1 型糖尿病の大部分は、T 細胞を主体とするリンパ球浸潤が膵島に認められることから、細胞性免疫異常が関与していると考えられている。われわれは、劇症 1 型糖尿病における細胞性免疫異常の新規検出法を確立する目的で、GAD 反応性の IFN<math>\gamma</math> 産生 CD4 細胞に加えて、ELISPOT 法による膵島抗原特異的 T 細胞反応の検出を試みた。さらに、T-helper1 細胞の細胞表面上に発現している CXCR3 をマーカーとして、それを有する免疫制御性 T 細胞（CXCR3 陽性 Treg=Hybrid Treg）につき、詳細に検討した。加えて、1 型糖尿病における細胞性免疫異常において、膵島に対しての攻撃因子である effector 細胞（CD25 陰性 CD4 細胞）についても検討した。このような検討が、劇症 1 型糖尿病を始めとする 1 型糖尿病の新規診断法の確立に繋がるのが強く期待されるのは言う迄もない。</p> <p><b>研究方法</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1 型糖尿病患者（n=200-300）のうち、（膵島関連）自己抗体（抗 GAD 抗体）陽性者をリクルートする。抗 GAD 抗体の測定は、コスミック社のキットを使用する。</li> <li>抗 GAD 抗体陽性が確認された 1 型糖尿病患者に対して、倫理委員会の承認をすでに得た書面を使用してインフォームドコンセントを取得し、HLA タイピングを行う。</li> <li>患者末梢血リンパ球を採取し、CXCR3、CD4、CD25、Foxp3 の 4 カラーにて染色し、フロー</li> </ol>	

サイトメーターを用いて解析する。

4) 3)と同時に、1型糖尿病の疾患活動性の指標として有用と考えられる血清 IP-10/ CXCL10 値 (T-helper1 タイプの活性化された細胞を局所に誘導する因子) も測定する。

5) さらに、3)と同時に、ELISPOT 法ならびに細胞内サイトカインのシステムを用いた GAD 反応性 IFN $\gamma$  産生 CD4 細胞を用いて、膵島抗原特異的 T 細胞反応の検出を試みる。具体的には、GAD、インスリンペプチドに対する反応性を中心に、IFN $\gamma$ 、および、IL10 産生能を検討する。

6) 抗 GAD 抗体、HLA、罹病年数、血清 IP10/ CXCL10 値と上記フローサイトメーターの解析により得られた Hybrid Treg ならびに effector 細胞との関係、さらには、膵島抗原特異的 T 細胞の反応性との関係を詳細に検討する。

7) 上記の後、抗体陰性例についても同様の検討を行う。

### 研究結果

1型糖尿病患者 (n=200-300) のうち、(膵島関連) 自己抗体 (抗 GAD 抗体) 陽性者をリクルートし、抗 GAD 抗体陽性が確認された 1型糖尿病患者、および対照としてインスリン治療中の抗 GAD 抗体陰性の確認された 2型糖尿病患者に対して、倫理委員会の承認をすでに得た書面を使用してインフォームドコンセントを取得し、Hybrid Treg (CXCR3+CD4+CD25+Foxp3+) 細胞、effector (CD25-CD4) 細胞の検討、さらには、ELSPOT 法ならびに細胞内サイトカインのシステムを用いた膵島抗原特異的 T 細胞反応の検出を試みた。その結果、劇症 1型糖尿病を始めとする 1型糖尿病患者では、Hybrid Treg 数の年齢に応じた増加率が対照に比して弱いことが確認された。一方、effector 細胞数については、1型糖尿病患者において対照に比して有意に多く、さらに、年齢に応じた減少が、1型糖尿病患者でのみ認められた。ELISPOT 法を用いた膵島抗原特異的 T 細胞の反応性については、複数のインスリンペプチドに対する反応性が、新規発症の 1型糖尿病患者において認められた。細胞内サイトカインのシステムを用いた GAD 反応性 IFN $\gamma$  産生 CD4 細胞については、劇症 1型糖尿病を含めて抗体陰性例でも反応性を認める例が存在した。ELISPOT 法を用いることにより、CD4 以外の T 細胞、多くは CD8 細胞の反応性を検出したものと考えられた。

### 考察

本研究では、1型糖尿病における細胞性免疫能の検出法の確立を試み、細胞内サイトカイン染色を用いた方法、ELSPOT 法、血清中ケモカインの測定に加えて、1型糖尿病の発症を制御するとされる Hybrid Treg、さらには、effector 細胞にも注目してその有用性を検討した。

### 結論

本研究では、1型糖尿病における細胞性免疫能の新規検出法を検討し、研究計画を予定通り終了した。

平成 22・23 年度 分担研究まとめ

分担課題名	劇症 1 型糖尿病解析における数式処理ソフトによる具体例の構成と計算
氏 名	西村保一郎
所属機関名	大阪医科大学医学部
<p>劇症 1 型糖尿病の統計解析に資する目的で、以下の研究を行った。</p> <p><u>目的</u></p> <p>非特異な複素有理曲面や、より一般的な複素代数曲面の複素射影空間における斉次イデアルの研究の歴史は古く、現在まで広範な研究がなされてきている。最近ではコンピュータの進歩に伴って、また優れた数式処理ソフトが開発されてきたことによって、斉次イデアルの複雑な計算が行えるようになってきた。計算からのアプローチによって、曲面とその <b>blow-up</b> の両者の斉次イデアルを比較する問題や、曲面のヒルベルトスキームの斉次イデアルを構成することによるヒルベルトスキームの性質を調べる問題に取り組むことを目的とする。</p> <p><u>方法</u></p> <p>数式処理ソフトのなかでも <b>Macaulay2</b> を主として用いて、曲面の埋め込みの斉次イデアルを具体的に計算することを通して斉次イデアルの研究を行なう。</p> <p><u>結果</u></p> <p>埋め込みを構成する技法、埋め込みの特徴を解析する技法、ヒルベルトスキームを構成する方法などの、数式処理ソフトでの複雑な計算の技法を獲得してきている。</p> <p><u>考察</u></p> <p>歴史的には斉次イデアルの具体例の計算がコンピュータを用いないでなされて、興味深い事実が蓄積されてきている。そこへコンピュータを導入することによって、計算可能となる範囲が飛躍的に増すばかりでなく、具体例の相互間の関連性の解析など新たな視点が加えることが可能となる。</p> <p>結論：計算の実践を通して、代数曲面の射影空間への埋め込みに関する新たな知見を目指したい。これらの知見は劇症 1 型糖尿病の統計解析に有効となる可能性が期待される。</p>	