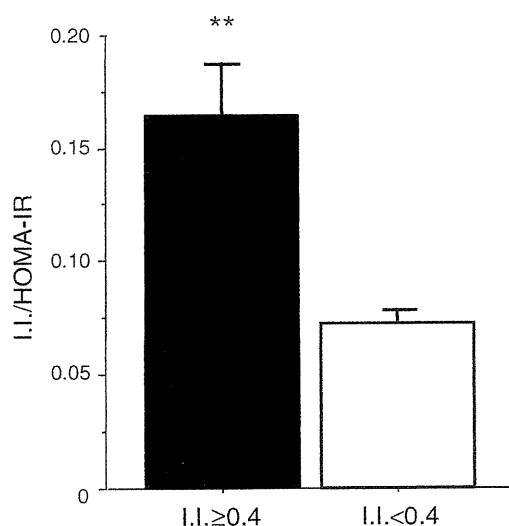


compared with the low response group ( $3.28 \pm 0.27$  vs.  $2.23 \pm 0.10$ ,  $p = 0.0022$ ). These results indicate that the diabetic patients in the high response group had delayed insulin secretion, but both early phase insulin secretion and the total insulin response were maintained after improvement of glucotoxicity.

Since insulin sensitivity influences the response of insulin, the ratio of I.I. to HOMA-IR (I.I./HOMA-IR ratio) is often used to evaluate  $\beta$ -cell function [18, 19]. The I.I./HOMA-IR ratio of the high response group



**Fig. 3** I.I./HOMA-IR ratio of the high response group and the low response group. Data are the mean  $\pm$  SEM.  $**p < 0.0001$

( $0.165 \pm 0.023$ ) was significantly higher than that of the low response group ( $0.073 \pm 0.006$ ,  $p < 0.0001$ ) (Fig. 3).

Clinical characteristics of the individuals with I.I.  $\geq 0.4$  in OGTT are shown in Table 2. Duration of diabetes was less than 1 year in 5 patients, but longer than 10 years in 9 patients. Patients with shorter duration tend to have higher I.I. among this group. Strikingly, one showed an NGT pattern and three a IGT pattern in OGTT after treatment of glucotoxicity. Their  $\Delta$ CPRs were 3.9, 4.0, 3.5, and 6.0, respectively, indicating their insulin secretion capacity was conserved.

After discharge, 13 of the 17 patients in the high response group were followed at Osaka University Hospital for at least 6 months. At the 6-month assessment, 4 of the 13 (30.8%) patients were still being treated with diet alone (Table 2). Their mean HbA1c at the 6-month assessment was  $6.2 \pm 1.1\%$ .

## Discussion

The insulin response to glucose is diminished in type 2 diabetic patients, even after glycemic control has been improved by the treatment of hyperglycemia [7, 8]. The persistence of an impaired insulin response after treatment of hyperglycemia is explained, at least partly, by the role of genetic factors [1]. In accordance with previous reports, the early phase insulin response was impaired (I.I.  $< 0.4$ ) in nearly 90% of our diabetic patients. Interestingly, we found that 10% of the diabetic patients exhibited normal I.I. values (I.I.  $\geq 0.4$ ) after intensive treatment of diabetes. These patients were characterized by visceral obesity and

**Table 2** Clinical characteristics of the individuals with I.I.  $\geq 0.4$  in OGTT

	Sex	Age	Duration (years)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	HbA1c (%)	$\Delta$ CPR (ng/ml)	I.I.	Medication	
	1	M	65	15	25.7	8.4	3.1	0.406	Insulin
	2	F	55	13	25.9	9.6	1.7	0.413	Insulin
	3	F	52	4	32.4	8.3	ND	0.420	OHA
	4	M	57	13	21.7	7.2	4.0	0.420	Diet
	5	M	64	12	22.9	8.4	2.9	0.425	Insulin
	6	M	53	12	26.1	10.3	1.8	0.438	OHA
	7	F	71	31	20.5	7.6	3.2	0.441	OHA
	8	F	65	13	24.3	7.6	2.6	0.447	OHA
	9	F	64	10	27.4	10.4	2.9	0.458	Insulin
	10	F	34	1	48.3	6.7	ND	0.467	Not followed
	11	M	62	5	26.6	8.1	3.2	0.496	Not followed
HbA1c; the data on admission	12 <sup>a</sup>	M	22	0	34.1	15.0	3.9	0.529	Diet
Medication; at the 6-month assessment after discharge	13	M	67	3	27.6	13.1	2.7	0.553	Insulin
	14	F	58	0	38.4	7.9	3.7	0.708	Not followed
<sup>a</sup> In this patient, OGTT showed an NGT pattern	15 <sup>b</sup>	M	35	0	42.8	8.2	4.0	0.744	Diet
	16 <sup>b</sup>	F	70	10	26.1	10.9	3.5	0.891	Diet
<sup>b</sup> In these patients, OGTT showed a IGT pattern	17 <sup>b</sup>	M	62	1	29.3	7.9	6.0	1.198	Not followed

insulin resistance. We previously reported a positive correlation between the I.I. and BMI after control of glucotoxicity [13]. However, there was a significant difference of the I.I./HOMA-IR ratio between the high response group and the low response group, so the high I.I. of the high response group cannot be simply explained by stronger insulin resistance.

Our results indicate the existence of a group of diabetics with a normal insulinogenic index after treatment of glucotoxicity. This finding could be interpreted in two ways. It is possible that their insulin response remained normal during the initial hyperglycemic stage, but another possibility is that their insulin secretion was improved to normal by amelioration of the diabetic state. We did not directly test the insulin response before treatment, so neither of these possibilities can be excluded. However, it is very unlikely that the insulin response was normal in diabetic patients who had an HbA1c exceeding 8%. We think that the reduction of glucotoxicity was highly beneficial for this group and that their response improved after treatment. In fact, some patients in this group showed an NGT or IGT pattern in OGTT after treatment of glucotoxicity. This group could be described as having the glucotoxicity type of diabetes.

The glucagon test showed that  $\Delta$ CPR was maintained in the high response group, indicating the possibility that diet therapy was effective in this group. In fact, about 30% of the patients maintained good glycemic control for 6 months after discharge with diet alone. The clinical course of diabetes and the appropriate treatment for this group should be further examined in a larger cohort.

In summary, we detected the existence of a group of diabetics in whom the insulinogenic index was in the normal range after treatment of glucotoxicity. These patients were characterized by visceral obesity and insulin resistance, and in some patients beta cell function including early phase insulin secretion could be recovered, leading to the stage of IGT or NGT. Further studies will be necessary to clarify their clinical features, course after treatment, and genetic background.

**Acknowledgments** We thank M. Moriwaki, T. Nammo, M. Kumada, S. Uno, J. Kozawa, K. Fukui, Y. Imamura, K. Sayama, Y. Tokui, I. Hayashi, A. Miura, Y. Kuroda, H. Shoda, S. Umemura, Y. Kuge, S. Tamba, S. Nakata, and K. Saisho for their valuable help with this study. This work was supported by grants from the Japan Society for the Promotion of Science (KAKENHI), Takeda Science Foundation, Novartis Foundation, and Japan Diabetes Foundation. The authors declare no conflict of interest.

## References

- Pratley RE, Weyer C. The role of impaired early insulin secretion in the pathogenesis of Type II diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2001;44:929–45.
- Cavaghan MK. Interactions between insulin resistance and insulin secretion in the development of glucose intolerance. *J Clin Invest*. 2000;106:329–33.
- Wollheim CB. Beta-cell mitochondria in the regulation of insulin secretion: a new culprit in type II diabetes. *Diabetologia*. 2000;43:265–77.
- Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*. 2005;365:1333–46.
- Pimenta W, Korytkowski M, Mitrakou A, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, Evron W, Dailey G, Gerich J. Pancreatic beta-cell dysfunction as the primary genetic lesion in NIDDM. Evidence from studies in normal glucose-tolerant individuals with a first-degree NIDDM relative. *JAMA*. 1995;273:1855–61.
- Poitout V, Robertson RP. Minireview: secondary beta-cell failure in type 2 diabetes—a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology*. 2002;143:339–42.
- Kosaka K, Hagura R, Kuzuya T, Kuzuya N. Insulin secretory response of diabetics during the period of improvement of glucose tolerance to normal range. *Diabetologia*. 1974;10:775–82.
- Kosaka K, Kuzuya T, Akanuma Y, Hagura R. Increase in insulin response after treatment of overt maturity-onset diabetes is independent of the mode of treatment. *Diabetologia*. 1980;18:23–8.
- Fukumoto Y, Ichihara K, Tarui S. Enhanced endogenous insulin secretion after treatment with monocomponent insulin. *Endocrinol Jpn*. 1977;24:457–61.
- Laedtke T, Kjems L, Porksen N, Schmitz O, Veldhuis J, Kao PC, Butler PC. Overnight inhibition of insulin secretion restores pulsatility and proinsulin/insulin ratio in type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2000;279:E520–8.
- Kuzuya T, Nakagawa S, Satoh J, Kanazawa Y, Iwamoto Y, Kobayashi M, Nanjo K, Sasaki A, Seino Y, Ito C, Shima K, Nonaka K, Kadowaki T. Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2002;55:65–85.
- Matsuda A, Kuzuya T. The prevalence of low insulin responders to oral glucose load among groups with various patterns of family history of diabetes. *Diabet Med*. 1996;13:S59–62.
- Akita FE, Okita K, Okauchi Y, Ryo M, Nakamura T, Funahashi T, Iwahashi H, Shimomura I, Miyagawa J, Yamagata K. Impaired early insulin secretion in Japanese type 2 diabetes with metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract*. 2004;79:482–9.
- Ryo M, Nakamura T, Kihara S, Kumada M, Shibazaki S, Takahashi M, Nagai M, Matsuzawa Y, Funahashi T. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circ J*. 2004;68:975–81.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28:412–9.
- Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257:79–83.
- Seino Y, Nanjo K, Tajima N, Kadowaki T, Kashiwagi A, Araki E, Ito C, Inagaki N, Iwamoto Y, Kasuga M, Hanafusa T, Haneda M, Ueki K. Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetol Int*. 2010;1:2–10.
- Jensen CC, Cnop M, Hull RL, Fujimoto WY, Kahn SE. American Diabetes Association GENNID Study Group. Beta-cell function is a major contributor to oral glucose tolerance in high-risk relatives of four ethnic groups in the U.S. *Diabetes*. 2002;51:2170–8.
- Gastaldelli A, Ferrannini E, Miyazaki Y, Matsuda M, DeFronzo MA. San Antonio metabolism study. Beta-cell dysfunction and glucose intolerance: results from the San Antonio metabolism (SAM) study. *Diabetologia*. 2004;47:31–9.

日本臨牀 第69巻・第5号（平成23年5月号）別刷

特集：インクレチン関連薬

インクレチンシステム調節にかかわる遺伝子異常  
の2型糖尿病への影響—TCF7L2遺伝子を中心に—

塩谷真由美 堀川幸男 武田 純

## IV. 特 論

インクレチンシステム調節にかかわる遺伝子異常  
の2型糖尿病への影響—TCF7L2遺伝子を中心に—

塩谷真由美 堀川幸男 武田 純

Association between polymorphisms of *TCF7L2* and  
type 2 diabetes with special reference to incretin action

Mayumi Enya, Yukio Horikawa, Jun Takeda

Department of Diabetes and Endocrinology, Graduate School of Medicine,  
Gifu University

## Abstract

TCF7L2 is a Wnt signaling-associated transcription factor and is ubiquitously expressed. Polymorphisms in the TCF7L2 gene exhibit the strongest association with type 2 diabetes among approximately twenty susceptibility gene variants identified to date. Although the mechanisms by which TCF7L2 affects susceptibility to type 2 diabetes remain to be elucidated, several studies have shown that decreased TCF7L2 protein inhibits the insulin secretory response to oral glucose through impaired incretin action (GLP-1, GIP). In this review, we discuss studies that investigate the association between polymorphisms of *TCF7L2* and the diabetic phenotype, especially *in vitro*  $\beta$  cell function with special reference to incretin action and the response to lifestyle intervention.

**Key words:** incretin, GLP-1, type 2 diabetes, SNP, TCF7L2

## はじめに

2006年にGrantらにより、*TCF7L2*の多型が新規2型糖尿病感受性遺伝子多型として発表された<sup>1)</sup>。その後2007年に各国から相次いで発表された2型糖尿病ゲノムワイド関連解析(GWAS)でも、再現性が報告され、日本人においても再現性が示されている<sup>2)</sup>。2型糖尿病と強い関連性を示すのは2個のSNPs、rs7903146とrs12255372であり、それぞれイントロン3とイントロン4に位置し、同一のLDブロック内に存在する。最初の報告では感受性アリルをヘテロ、あるいはホモでもつ頻度は38%、7%、そ

れぞれの相対危険度(RR)は1.45、2.41でこれらの民族への糖尿病発症寄与度は21%にのぼるとされた。GWASでは他の2型糖尿病感受性遺伝子多型として、*CDKAL1*、*HHEX*、*CDKN2B*、*IGF2BP2*などが、日本人スタディでは*KCNQ1*<sup>3)</sup>が新規に見いだされたが、これらすべての感受性遺伝子多型の中で*TCF7L2*の多型が最も強い関連性を示すことから、どのような発症メカニズムで2型糖尿病発症に関係するのかが大変注目されている。現時点では残念ながら明確に解明されたとはいえないが、徐々に明らかになりつつある現状について、本稿では特にインクレチンとの関連を中心に紹介したい。

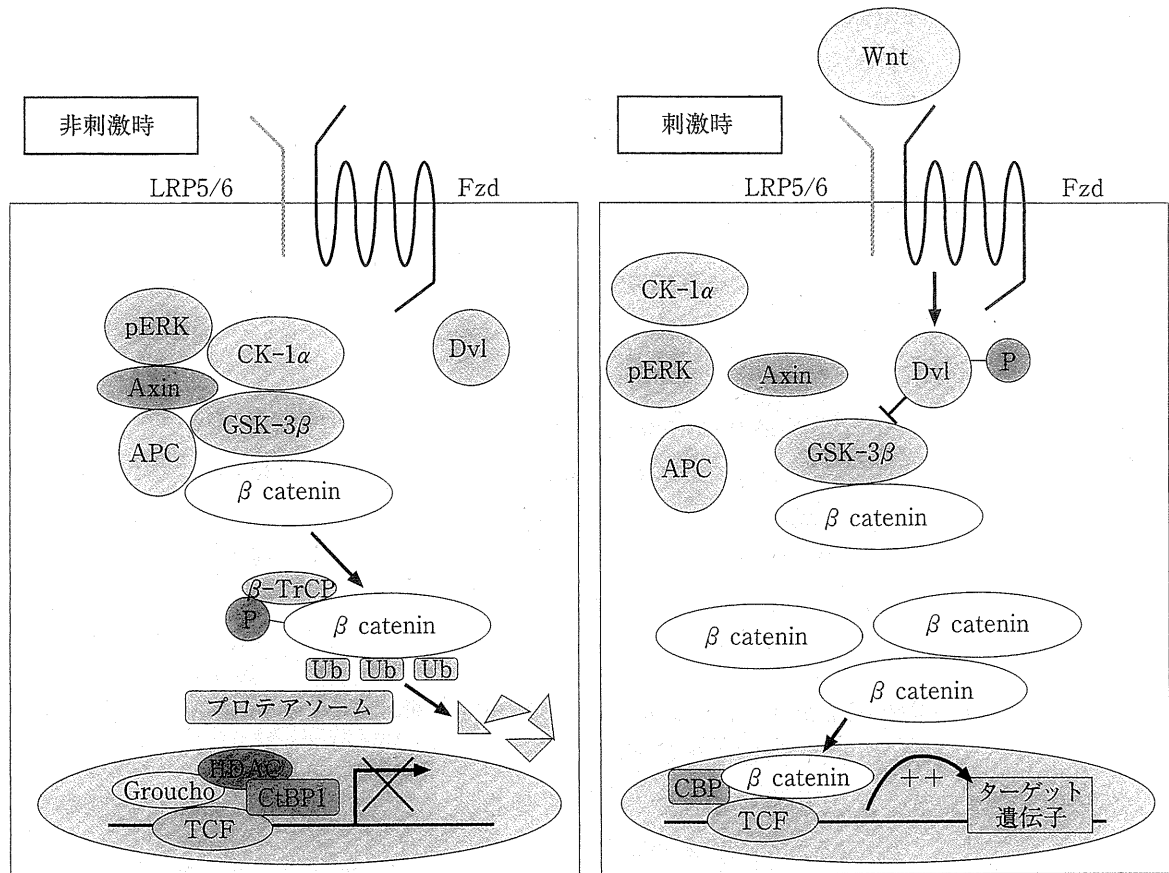


図1 カノニカル Wnt シグナルパスウェイ

Wnt シグナル非刺激時には、βカテンンはGSK-3、CK-1α、pERK、APC、axinなどの複合体によってリン酸化を受けたのちユビキチン化され、プロテアソームで分解される。TCFタンパクはターゲット遺伝子のプロモーターに結合し、コリプレッサーを誘導してターゲット遺伝子の転写を抑制する。Wnt刺激により、DvlがGSK-3βを抑制し複合体を破壊する。βカテンンはリン酸化されずに増加し、TCF/LEFと結合し、CBPなどコアクチベーターを誘導してターゲット遺伝子の転写を活性化する。

GSK-3β: glycogen synthase kinase-3β, APC: adenomatous polyposis coli, CK-1α: casein kinase 1α, Dvl: Dishevelled, pERK: phosphorylated ERK, β-TrCP: β-transducin repeat containing protein, LRP: low-density lipoprotein receptor related protein, HDAC: histon deacetylase, CtBP1: C-terminal binding protein 1, Fzd: frizzled.

### 1. TCF7L2 遺伝子について

TCF7L2は10q25.3に存在し、216kbの領域に17個のエクソンを有する。TCF/LEFファミリーに属する転写因子でHMG boxをもち、カノニカル Wnt シグナルパスウェイの下流に位置する遺伝子の転写を制御する(図1)。Wntシグナルパスウェイは初期発生や形態形成、器官形成、細胞増殖・分化・運動などを制御しており、糖尿病以外に癌や骨・軟骨疾患、精神神経疾患などとの関連が報告されている。TCF7L2 遺伝子の発現はユビキタスであるが、マウスでは腸

上皮、脂肪細胞、中枢神経組織に高発現が認められるのに対し、膵臓にはわずかししか発現していない<sup>4)</sup>。ノックアウトマウス(TCF7L2<sup>-/-</sup>)は生後まもなく死亡する。14.5日齢の胎仔の腸上皮では、絨毛間で陰窩となるべき領域に増殖がみられないことから、小腸陰窩の幹細胞の維持に必要であると考えられている。ノックアウトマウスにおける膵isletの異常については報告されていない<sup>5,6)</sup>。

TCF7L2の多型がどのようなメカニズムで2型糖尿病の発症リスクを高めるかについては、幾つかの仮説が立てられ、解明に向けて多型と

表現型との関係についての解析や, *in vitro* における機能解析についての報告が相次いでなされつつある。

## 2. TCF7L2 遺伝子と膵β細胞

Shu らは *TCF7L2* の転写抑制により, 2 型糖尿病のβ細胞にどのような影響が現れるかを検討している<sup>7)</sup>。まず 2 型糖尿病のヒト膵組織およびモデルラットの islet において, *TCF7L2* のタンパク量と mRNA 発現を調べたところ, タンパク減少に対し mRNA 発現増加という相反する結果がみられた。次に siRNA でヒト islet の *TCF7L2* を抑制したところ (si*TCF7L2*), *GLP1R* と *GIPR* の発現は低下し, 逆に *TCF7L2* を過剰発現させると両者とも発現は増加し, *TCF7L2* と *GLP1R/GIPR* 間に正の相関が認められた。また si*TCF7L2* はグルコース応答性インスリン分泌と同様に, GLP-1 および GIP によるインスリン分泌を低下させるが, KCl 誘発性のインスリン分泌は低下させず, 更に細胞内 cAMP 増加を介したインスリン分泌も保たれていることが示された。つまり *TCF7L2* の低下によるβ細胞の機能低下の一部は, GLP-1/GIP 受容体を介するものであると考えられる。また si*TCF7L2* は, GLP-1 と GIP による AKT のリン酸化を抑制することにより, β細胞の保護作用を低下させることから, *TCF7L2* はβ細胞増殖を刺激し, アポトーシスを減弱させる働きがあると推測されている。

## 3. TCF7L2 遺伝子多型と 2 型糖尿病発症リスク

*TCF7L2* のイントロンに存在する多型が, どのように 2 型糖尿病発症リスクを上昇させるのであろうか。現在推測されている幾つかのメカニズムについて, 当施設での解析結果も交えて概説する。

### a. Entero-insular axis および GCG 由来 グルカゴン分泌への影響

*TCF7L2* はプログルカゴン遺伝子である *GCG* の転写を活性化するが, *GCG* は小腸 L 細胞においては GLP-1 を, 膵α細胞ではグルカゴンを

エンコードする。よって *TCF7L2* の多型は, 2 型糖尿病患者における経口負荷後のインスリン, インクレチン反応の低下やグルカゴン高値に影響するのではないかと推測された。しかし実際に rs7903146 のリスクアリルである T アリルのキャリアで, GLP-1 の低下やグルカゴンの上昇は認められていない<sup>8)</sup>。

### b. PCSK1 と PCSK2 の転写への影響

プロインスリンからインスリンへの変換には, プロホルモン変換酵素である PC1/3 (*PCSK1*) と PC2 (*PCSK2*) によるプロセッシングが必要である。Loos らは, *TCF7L2* の T アリルのキャリアで空腹時のプロインスリン濃度が高いこと, *PCSK1* と *PCSK2* のプロモーター領域に TCF 結合領域が存在することから, β細胞におけるプロインスリンのプロセッシングに *TCF7L2* が影響すること, 2 型糖尿病になりやすくしている可能性があることを報告している<sup>9)</sup>。著者らも独自に *PCSK1* の多型において 2 型糖尿病関連解析で有意差を認めており (未発表データ), *TCF7L2* 多型との相互作用などについても検討中である。

### c. β細胞におけるインクレチン感受性の低下

Villareal らは 5h-OGTT, およびそれと同じ血糖値プロファイルを再現するように設定された静脈内グルコース注入法における, 血中インスリン分泌量の差からインクレチン効果を算出し, *TCF7L2* の TT/TC ジェノタイプ 8 人とマッチングさせた CC ジェノタイプのコントロール 10 人の比較を施行している<sup>8)</sup>。その結果, β細胞インスリン分泌能は TT/TC 群は CC 群に比べて 50% 低値を示し, インクレチン効果も有意に低値を示した。それに対し, 経口ブドウ糖負荷に対する GLP-1 と GIP の反応には群間に差が認められず, *TCF7L2* の T アリルはインクレチン分泌そのものではなく, β細胞のインクレチン感受性を低下させることによって, 経口摂取されたグルコースに対するインスリン分泌が低下すると結論づけている。

#### 4. TCF7L2 遺伝子多型と 2 型糖尿病 関連の表現型

次に、臨床表現型と *TCF7L2* の多型との関係についての報告を紹介する。Lyssenko らはスウェーデンとフィンランドにおける 9,663 人、中間観察期間 22 年の大規模な前向きコホートで、rs7903146 の TT/TC 群が CC 群より、rs12255372 の GT/TT 群が GG 群より有意に糖尿病を発症するリスクが高いと報告している(それぞれ OR 1.58, 1.42)<sup>10)</sup>。

Pilgaard らは正常耐糖能の若年白人成人 81 人において、*TCF7L2* の rs7903146 のジェノタイプ(TT/TC vs CC)により、どのような代謝上の特徴がみられるかを詳細に検討し、Tアシルをもつ群で以下のように報告している<sup>11)</sup>。① 24 時間の血糖値には差がみられないが、血漿インスリン(AUC<sub>ins24h</sub>)、グルカゴン値(AUC<sub>glucagon24h</sub>)は有意に低値であった(図 2)。② 高インスリン正常血糖クランプでは肝糖新生が有意に高く、血漿グルカゴン値は低かった。③ OGTT では血中インスリン値が低い傾向を示したが、血糖値、GLP-1、GIP 濃度で差はみられなかった。④ IVGTT では血糖値、血中インスリンレベルにおいて TT/TC と CC の間に差はみられなかったが、OGTT と IVGTT の総インスリン分泌量の比(AUC<sub>insOGTT</sub>/AUC<sub>insIVGTT</sub>)は、TT/TC 群で低い傾向を示した。⑤ ミールテストでは、GLP-1 と GIP の分泌は正常で、血糖値もインスリン値も有意差を認めなかったが、食後の血糖値の変化に対するインスリン分泌を計算すると有意に低かった。⑥ 高血糖クランプ下の GLP-1、GIP によるインスリン分泌反応で、注入後半の 75 分後、90 分後、後期相全体(20-120 分)でのインスリン分泌は低値であった。後期相のみでインクレチン誘発性のインスリン分泌が低下する理由については、β細胞膜直下に位置する分泌直前のインスリン分泌顆粒は正常でも、分泌準備段階のインスリン分泌顆粒と *de novo* のインスリン合成が低下するからであろうとし、結論として rs7903146 の Tアシルは、グルカゴンは低いな

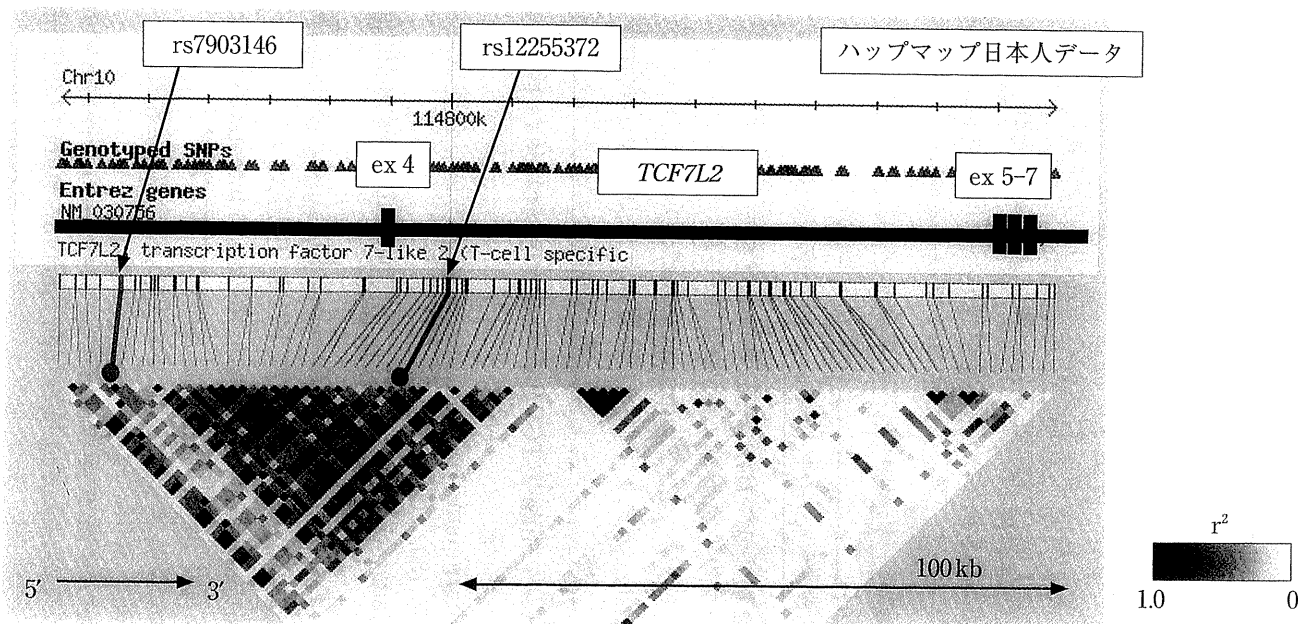
がらも肝糖新生の増加とインクレチン誘発性インスリン分泌能の低下により、2 型糖尿病発症のリスクを高めると推測している。

#### 5. TCF7L2 遺伝子多型と 環境因子との関連

*TCF7L2* の多型は、環境因子との相互作用の観点からも注目されている。Heni らは、rs7903146 の Tアシルのキャリアは血糖値が高いほどインスリン分泌能が低下し、Tアシルのキャリアに 9 カ月の生活習慣の介入を行うと、介入前に IGT であった群は正常耐糖能群に比べて、インスリン分泌が有意に増加することを報告している<sup>12)</sup>。つまり Tアシルのキャリアにおけるインクレチンによるインスリン分泌能の相対的な低下は、インスリン抵抗性の改善により有意に回復しやすいため、糖尿病の前段階から生活習慣の改善を図ることが重要であると述べている。同じような現象は、DPP(Diabetes Prevention Program)でも認められており、TT ジェノタイプ群は CC 群よりも IGT から糖尿病に移行しやすいが、生活習慣の介入を行った場合には糖尿病発症率に差がみられなくなっている<sup>13)</sup>。

#### おわりに

*TCF7L2* が 2 型糖尿病発症にどのように影響するか、これまでの報告を簡単にまとめると図 3 のようになる。*TCF7L2* の機能低下はインスリン抵抗性ではなく、インスリン分泌に影響を与えることは間違いなく、しかもそこにはインクレチンシステムが大きくかかわっていることがわかってきた。しかし、依然として不明な点も多い。イントロンの多型がどのように *TCF7L2* の機能に影響を与えるのか。発現レベルを変化させるのであろうか。どうやって *GLP1R* と *GIPR* の発現に影響を与えるのか。ほかに組織ごとに *TCF7L2* のスプライシングパターンが異なることが報告されており<sup>14)</sup>、病態との関連が疑われるが、それについても詳細は不明である。今後の解析が待たれる。



rs7903146 ジェノタイプ別の  
24時間グルコース、インスリン、グルカゴンの血中濃度

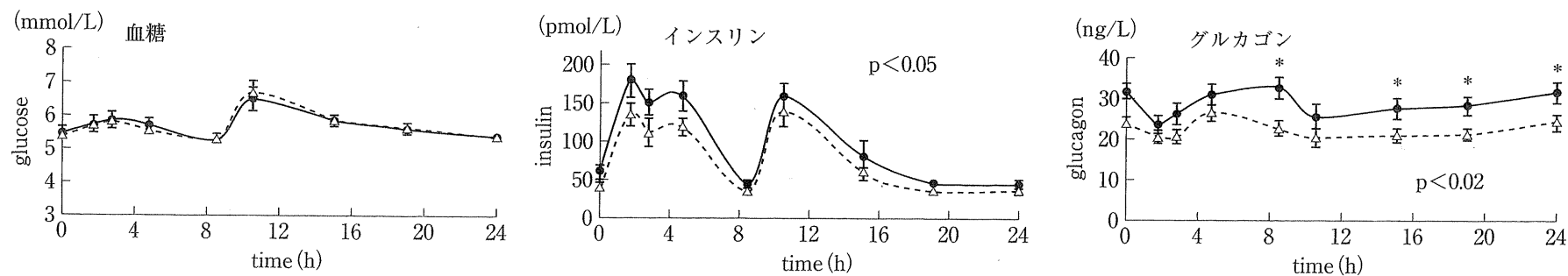


図2 TCF7L2 の rs7903146 周辺の LD マップとジェノタイプ別の 24 時間グルコース、インスリン、グルカゴン血中濃度の比較(グラフは文献<sup>11)</sup>より引用)  
実線は CC 型、破線は TT/TC 型を示す。



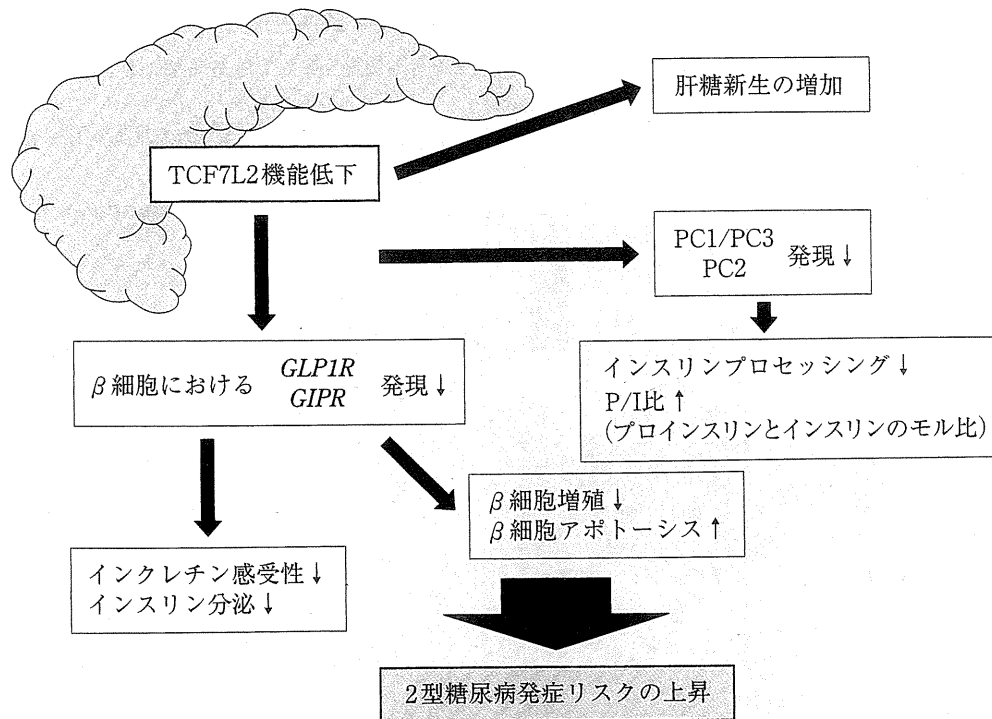


図3 β細胞におけるTCF7L2機能低下がインクレチンなどを介して2型糖尿病発症リスクを高めるメカニズム

## ■ 文 献

- 1) Grant SF, et al: Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nat Genet* **38**: 320-323, 2006.
- 2) Miyake 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.
- 3) Yasuda K, et al: Variants in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* **40**: 1092-1097, 2008.
- 4) Columbus J, et al: Insulin treatment and high-fat diet feeding reduces the expression of three *Tcf* genes in rodent pancreas. *J Endocrinol* **207**: 77-86, 2010.
- 5) Korinek V, et al: Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking *Tcf-4*. *Nat Genet* **19**: 379-383, 1998.
- 6) Gregorieff A, et al: Hindgut defects and transformation of the gastro-intestinal tract in *Tcf 4(-/-)/Tcf 1(-/-)* embryos. *EMBO J* **23**: 1825-1833, 2004.
- 7) Shu L, 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.
- 8) Villareal DT, et al: *TCF7L2* variant rs7903146 affects the risk of type 2 diabetes by modulating incretin action. *Diabetes* **59**: 479-485, 2010.
- 9) Loos RJ, et al: *TCF7L2* polymorphisms modulate proinsulin levels and beta-cell function in a British European population. *Diabetes* **56**: 1943-1947, 2007.
- 10) Lyssenko V, et al: Mechanisms by which common variants in the *TCF7L2* gene increase risk of type 2 diabetes. *J Clin Invest* **117**: 2155-2163, 2007.
- 11) Pilgaard K, 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.
- 12) Heni M, et al: . Glycemia determines the effect of type 2 diabetes risk genes on insulin secretion. *Diabetes* **59**: 3247–3252, 2010.
  - 13) Florez J, et al: *TCF7L2* polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N Engl J Med* **355**: 241–250, 2006.
  - 14) Prokunina–Olsson L, et al: Tissue–specific alternative splicing of *TCF7L2*. *Hum Mol Genet* **18**: 3795–3804, 2009.

# I ゲノミクス

## 糖尿病領域におけるGWASと 全ゲノムシーケンシング

岐阜大学大学院医学系研究科内分泌代謝病態学臨床教授

堀川 幸男

Yukio Horikawa

### Key Words

GWAS

SNP

次世代ゲノムシーケンサー

エクソーム

エピゲノム

### はじめに

人類は、生命設計図であるヒトゲノムを読破したのち、遺伝子タイピング技術を進歩させ、全ゲノム関連解析 (Genome-Wide Association Studies ; GWAS) を可能にした。この大規模関連解析により現在まで約 20 ~ 30 種類の遺伝子多型で 2 型糖尿病発症との関連が認められ、人種、民族を超えた高頻度、低浸透率の糖尿病感受性アリルが存在することが証明された。しかし従来の糖尿病発症の臨床危険因子 (年齢、肥満、家族歴など) に比べて、遺伝子多型の発症予測における有用性は現時点では低く、依然 40 ~ 60 % といわれる遺伝率のほんの数%しか説明できない。今後は、GWAS では獲得できなかったと考えられる低頻度、高浸透率の糖尿病原因アリル同定に関心がシフトすると考えられる。これには、表現型の均質なサンプル集団と革新的技術の結集である次世代シーケンサーが必須であり、全ゲノムシー

クエンシング、なかでも全エクソンシーケンシング (エクソーム) による、エクソン変異の探索が鍵となる。もちろん同時に、遺伝子配列変化を伴わないエピゲノム変化も含めて遺伝素因解明を進めていくことが重要であることはいうまでもない。

### I . 2 型糖尿病 GWAS の実際

GWAS には適切な検出力 ( $1-\beta$ ) を有するサンプルサイズや有意水準 ( $\alpha$ ) の設定など研究デザインが重要である。従来 Bonferroni 補正のように 0.05 を検定数で割って  $\alpha$  を設定する多重検定補正がよく適応されてきた。

事後オッズ = 事前オッズ × 尤度比  
尤度比 = 真の陽性率 / 偽の陽性率 =  
検出力 / 有意水準 = 感度 /  $1 -$  特異度

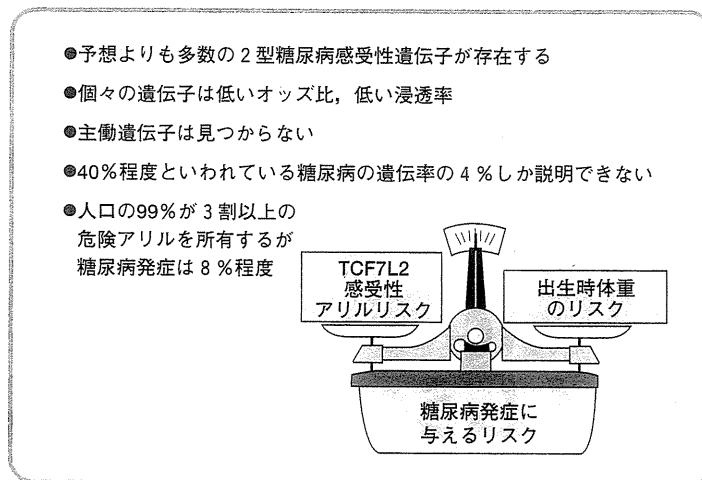


図1. ゲノムワイド関連解析で現在までに判明したこと

で表される。たとえば、ある糖尿病遺伝子多型の事前オッズを  $1 \times 10^6$  オーダー(百万個)の中から10個の遺伝子多型が真の関連があるくらいとすると、事前オッズは  $1 \times 10^{-5}$  のオーダーと予測される。そのときの検出力 ( $1 - \beta$ ) を0.5とし、有意水準 ( $\alpha$ ) を  $5 \times 10^{-7}$  と設定すれば、その糖尿病遺伝子多型を検出する事後オッズは10となる。すなわち候補として同定された遺伝子多型は約91%、真の関連がありうる遺伝子多型ということになる<sup>1)</sup>。単一のGWASでこの基準をクリアできたのは、*TCF7L2*, *FTO*, *KCNQ1*のみである<sup>2)-5)</sup>。現在までで最もORが大きい1.4程度を呈する*TCF7L2*, *KCNQ1*で考えてみても、 $\alpha$ を前述のように設定すると80%の検出力を得るためには最低で1,400人ずつくらいの患者、対照者のサンプルが必要になる計算になる。現在ではケース・コントロールそれぞれ3~5千人スケールの関連解析が多く報告され検出力は満たしているが、今度はかえってサンプルの異質性をあげている可能性についても考慮しなければならない。

## II. 2型糖尿病GWASから判明したこと

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。しかもそれぞれの遺伝子効果(オッズ比)・浸透率は低く、「主働遺伝子」は見当たらないことであった(図1)。

現実には日本人で、現在まで同定された主要危険アリルの3分の2以上をもつ人で、糖尿病発症予測確率が、7% [糖尿病有病率(事前確率)] から約12% (事後確率) 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、代表的な3つの臨床形質である年齢、BMI、性で糖尿病発症は68%の確からしさで決定できるが、そこに上記の遺伝素因を足してもその確からしさが72%に上がるのみである<sup>6)</sup>。白人のコホートをを用いた検討でも、疾患発症予測については、遺伝素因は、従来の臨床危険因子(肥満、家族歴など)より有用性は低かった<sup>7)8)</sup>。しかし臨床危険因子に遺伝素因を足すことにより、わずかながら発症予測率が上がることで、また長期観察期間をおけば遺伝素因による発症予測は臨床危険因子によるそれを上回ることも明らかになった。したがってなるべく早く生下時に遺伝子診断をすることは2型糖尿病発症予測に有用であることは間違いないと考えられる(図2)<sup>8)</sup>。

以下に糖尿病GWASで同定された新規糖尿病感受性遺伝子のうちでコーカシアンと日本人でそれぞれ最も強い関連が認められた感受性遺伝子2つについて概説する。

### 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

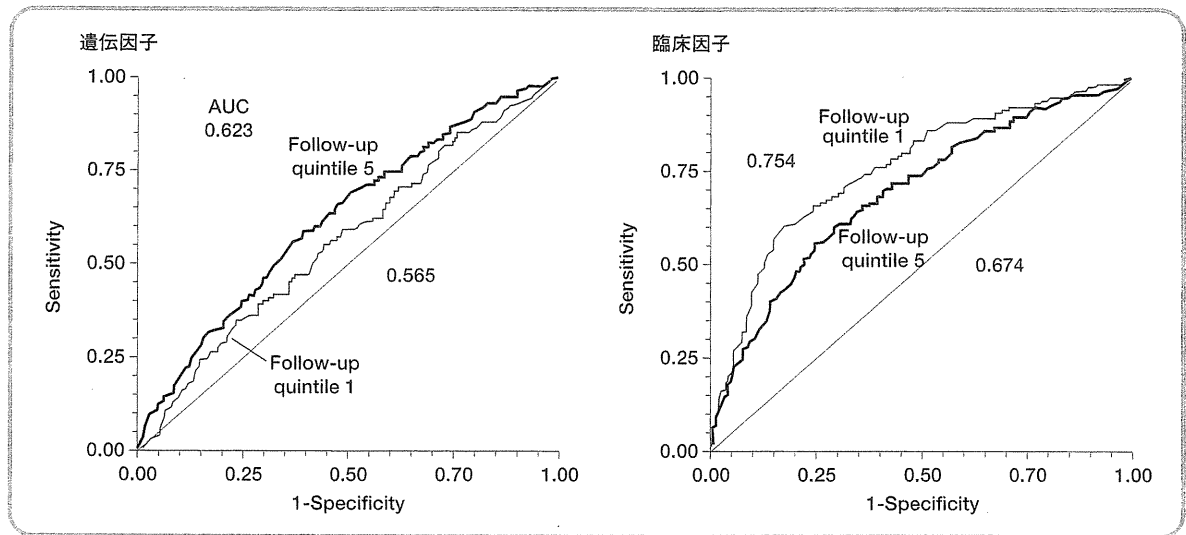


図 2. 糖尿病発症予測への遺伝素因と臨床危険因子の貢献度

観察期間が長い群 (—) : 遺伝因子のほうが効く  
 観察期間が短い群 (---) : 臨床因子のほうが効く

(文献 8 より引用改変)

子は、北欧白人でも頻度は低いながらも 2 型糖尿病の遺伝素因であることが明らかになった<sup>5)</sup>。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<sup>9)</sup>、日本人 2 型糖尿病において、非常に重要な遺伝素因と思われる。

KCNQ1 は、細胞膜上に存在する電位依存性 K チャネルの 1 つである、Kv7.1 の  $\alpha$  サブユニットであり、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 の感受性 SNP は、インスリン分泌障害を介して 2 型糖尿病の発症リスクを高めると考えられている。KCNQ1 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<sup>10)</sup>や、全身ノックアウトマウスの解析よりインスリン感受性に関連している可能性も報告されている<sup>11)</sup>。また KCNQ1 の存在する領域は 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いるので<sup>12)</sup>、感受性アレルの片親由来を決定できれば、真の関連性、効果を判定できると考えられる。標準的な関連解析では、片親由来に特異的効果を示す疾患感受性アレルの場合には検出力が落ち、関連性が確立された場合でも、真の効果は過小評価される。そこで deCODE が合計 2,251 人の 2 型糖尿病サンプルを用いた片親由来別の追加解析を本遺伝子に関して施行したところ、本来遺伝子発現される母親由来の感受性アレルは有意に疾患と関連したが (OR = 1.30, p = 0.0084),

父親由来の場合は関連性を認めなかった (OR = 1.03, p = 0.71)。既知の GWAS のデータも、片親由来アレルごとの関連解析の観点で見直す必要があると考えられる (表)<sup>13)</sup>。

## 2 TCF7L2 (transcription factor 7-like 2)

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) /  $\beta$ -catenin 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。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<sup>14)</sup>。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<sup>15)</sup>。膵  $\beta$  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) でほぼすべてで、2 型糖尿病との関連が示されており、現在民族を超えた 2 型糖尿病の感受性遺伝子として最も注目されている。この TCF7L2 のリスク C アレル (rs7903146) は DPP (Diabetes Prevention Program) に参加している耐糖能異常

表. rs2237892 (KCNQ1) の片親由来アレルの関連解析

		標準 ケース・コントロール		片親由来アレルのケース・コントロール								
2型糖尿病	コントロール	OR	P	父由来アレル		母由来アレル		2-df	ケースオンリー 父方由来 vs. 母方由来			
				OR	p	OR	p	p	n12 : n21	p		
1,468 (discovery)	vs. 34,706 (Cアレル 92.5%)	1.19	0.044	1.14	0.24	1.24	0.071	0.095	81 : 90	0.51		
783 (replication)						0.87	0.30	1.43	0.024	0.050	35 : 59	0.014
2,251 (combined)						1.03	0.71	1.30	0.0084	0.027	116 : 149	0.054

(文献13より引用改変)

の対象者の糖尿病進展にインスリン分泌不全を介して関与していることが明らかとなった<sup>16)</sup>。その後、TCF7L2のリスクアレルとインスリンの分泌低下、インクレチン作用の低下、糖新生の亢進との間で有意な相関が報告された<sup>17)</sup>。またヒト膵島で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の活性化を介した膵β細胞アポトーシスの増加が報告されている<sup>18)</sup>。

### Ⅲ. 今後の糖尿病遺伝子探索法

GWASでは高頻度の遺伝子多型をタイピングしてきたため、依然同定されていないものは、効果の弱い高頻度の感受性アレルか、効果はどうであれ低頻度の感受性アレルである。いま残りの感受性アレルがこれまで同定されている程度のオッズ比と頻度であると仮定すると、2型糖尿病の遺伝率40%を説明するには約800個の感受性アレルが必要となる。もしオッズ比が2~4くらいで頻度がGWASの10分の1くらいの感受性アレルを仮定すれば、残り80個くらいの感受性アレルがあれば説明可能となる<sup>19)</sup>。

もし低頻度のSNPアレイが利用可能となったなら、既存の全ゲノム関連解析の数千くらいのサンプルで、効果の強い(高浸透率)感受性遺伝子同定は可能となる。しかし、低頻度の感受性アレルは、比較的新しく出現したものであり、民族特異的である可能性が強く種々の人種の関連解析を単純に足して数合わせをすることはできない。また、同一民族においても単に解析するサンプル数を増やすことは、集団の均質性を下げ遺伝子効果を隠すため、むしろ遺伝子同定を困難にすることも考えられる。したがって低頻度で効果の強い感受性アレルは、若年発症あるいは家族性の糖尿病など(MODYなど)、より表現型の均質な集団で探索することが最善と考えられる。

したがって、現時点では高頻度で弱い効果の感受性アレル同定には大規模関連解析が、低頻度で中等度の遺伝子効果の同定にはGWASとそれに続く感受性遺伝子座の特化的ゲノムあるいはエクソンシーケンスが、そしてさらに低頻度の遺伝子効果の強いアレル同定には家族サンプルを用いたSNPアレイを用いた全ゲノム連鎖解析とそれに続く感受性遺伝子座の特化的エクソンシーケンスが最も有用であると考えられる(図3)<sup>20)</sup>。

前述のように、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

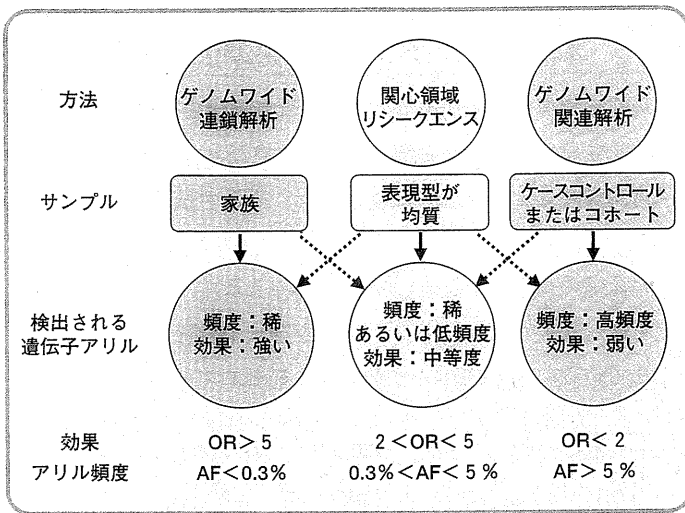


図3. 感受性遺伝子アレルの頻度と効果に基づいた最適疾患遺伝子同定法

(文献20より引用改変)

きたが、低頻度で高浸透率の2型糖尿病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注意すべきである。こうした頻度の低い、効果の強い糖尿病アレルを捉えるためには、次世代シーケンサーを用いた、エクソンを主体としたゲノムリシーケンシングの方法論が必要になる。ここ数年の遺伝子解析技術の革新的進歩とともに、ヒトゲノム解析は飛躍的に進んだ。まず、一度に100万個のSNPがタイピングできるチップアレイが実現され、polygenic型疾患の共通感受性遺伝子多型同定に使われた<sup>21)</sup>。また次世代シーケンサーによって大量ゲノムの大規模シーケンシングが可能となった<sup>22)</sup>。同時に大人数の個人全ゲノムシーケンシングは依然不可能であるが、約30Mbの約2万個エクソン(蛋白コード領域)に限った大規模シーケンシングは今や可能になった(図4)<sup>23)</sup>。この方法は遺伝子変異効果の強いmonogenic型疾患の原因遺伝子探索に適している。個人の全エクソンシーケンシング(エクソ

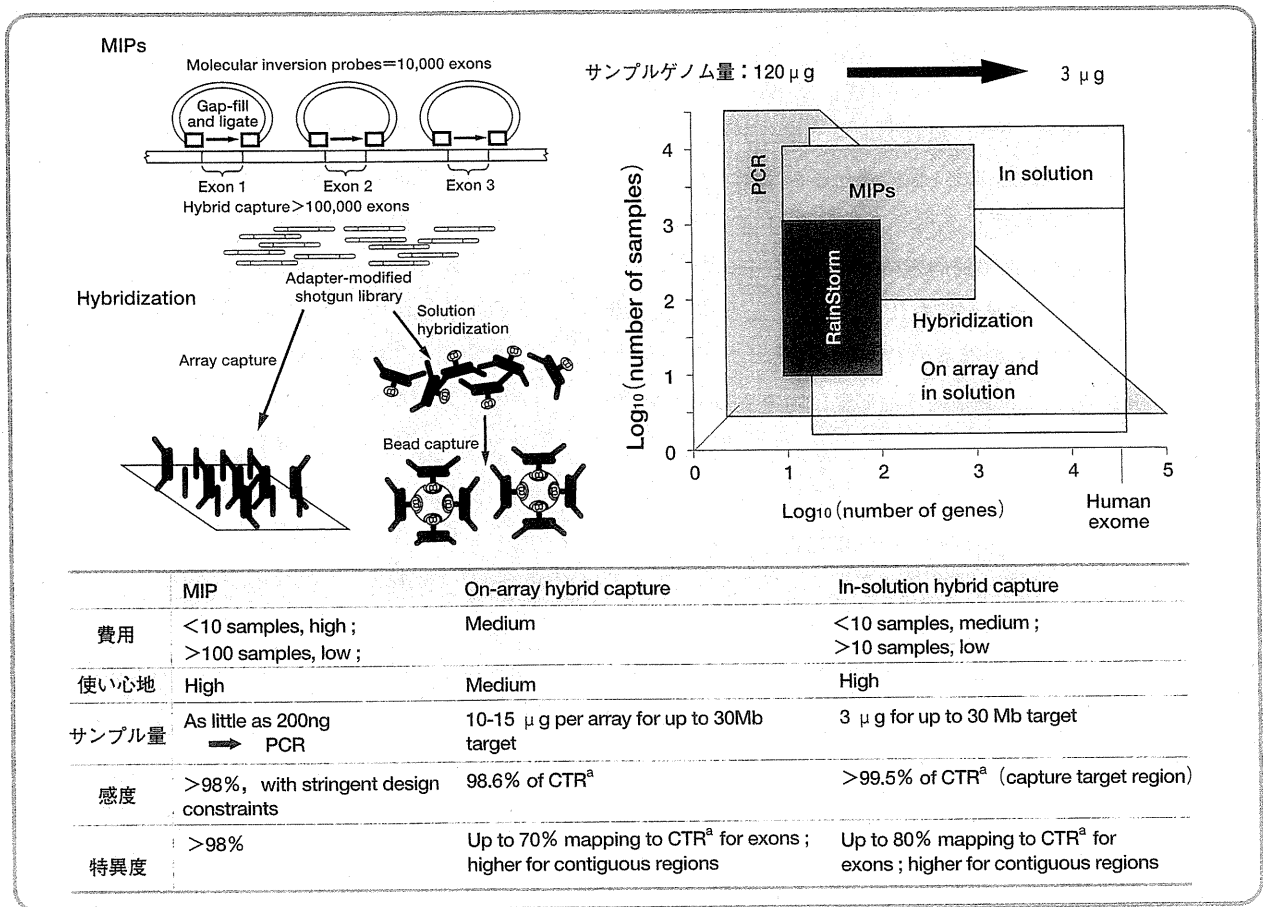


図4. 最適の領域特化原因遺伝子同定法

(文献23より引用改変)

ーム)によって約2万個のcSNPsが同定されるが、その9割は既知のSNPデータベースに認められ、新規のものは約1割程度であること、またデータベースを用いた非特異的cSNPs除去を行わなくても、15~20人の対照者を読み比較することで原因エクソン変異を充分同定できることも報告されている<sup>24)</sup>。しかもin-solution hybrid法を使えば効率良くエクソンを抽出することができ、もし個別のPCRなら120  $\mu$ gのゲノムが必要な約30Mbにわたる全エクソンを、3  $\mu$ gのゲノムで読み切れるのでサンプル量節約の点からも非常に有用である<sup>23)</sup>。

病気の原因遺伝子の85%はエクソン変異といわれているが、最近、このエクソーム法が病気の原因遺伝子を同定するのに有用であることが実際に示された。4人の患者と8人のハプマッププロジェクトに使われた正常者を用いて、フリーマンシエルダン症候群(関節拘縮症)の原因遺伝子同定が報告された。また他の家族性疾患においても2,3の成功例の報告がある<sup>25)-27)</sup>。

このエクソーム法で最も重要なことは、多くのありふれたエクソン多型(cSNPs)から真のエクソン変異を効率良く、しかも確実に選び出すことである。現在は数例の正常者のシーケンスやパブリックな遺伝子多型データベースとの比較により差別化する方法がよく使われているが、最近デンマークのグループは2,000人のデンマーク人での18,654個の遺伝子の全エクソンシーケンスを終了し独自にデータベース化した(LuCamp)。日本人特異的エクソン変異の効率的同定のためにも、日本人においても同様のデータベース構築が待たれる。

また最近では現在まで施行された複数のGWASを統合した糖尿病発症に関するメタ解析や<sup>28)</sup>、糖尿病量的形質に関連する遺伝子多型を回帰分析(PLINK)で求める成績がよく報告されている<sup>29)</sup>。後者は糖尿病の発症までには1つの遺伝素因で及ばないものでも、糖尿病関連の各表現型と、統計学的に有意な関連を示すものを獲得する方法である。興味深いことに、空腹時血糖やHOMA-Bは感受性アリルが多く同定されるのに対して、空腹時インスリンやHOMA-Rは同定される感受性アリルが少ないなど、同様の遺伝率(約30%)の表現型でもその裏にある遺伝構造は違うことが示唆されている<sup>29)</sup>。今後、量的形質と関連する遺伝素因には、臨床現場において糖尿病関連体質を予測するツールとしての役割が血中マーカー共々期待される。

## Ⅳ. エピジェネティクスのアプローチ

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後の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、生活習慣に対する代謝応答システム形成を通して影響を与えていることは疑いない<sup>30)</sup>。この記憶の仕組みとして、メチル化など遺伝子の塩基配列の変化を伴わない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、生殖細胞では一旦リセットされると考えられていたし、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おり興味深い。これに関しては他稿を参照されたい。

## おわりに

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。また集団遺伝学として得られたデータを個人レベルに流用、転用するのも困難である。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素因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。したがって現段階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るが、新規治療法の開発ならびに創薬への展開にとっては重要な役割がある。現世代のシーケンサーは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。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っただけでなく、CNV(Copy Number Variant)のようなゲノム構造変異の同定もより簡便になった。

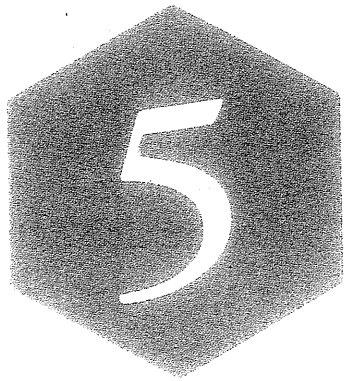
低頻度で高浸透率の遺伝子変異は、まだ多くのものが同定されていないと考えられ、今後、若年発症の家族性糖尿病(MODYなど)のような均質な集団サンプルと次世代シーケンサーによるエクソームをもってはじめて同定されると考えられる。GWASでは多くの場合イントロンのアリルが感受性アリルとして同定され病態解明に結びつき難かったが、蛋白コード領



域に着目した場合は、遺伝子変異同定後の生理機能解析などから2型糖尿病の病態解明に直結することが考えられる。また糖尿病標的臓器での網羅的遺伝子プロファイリング(トランスクリプトーム)<sup>31) 32)</sup>や相互作用蛋白を網羅する蛋白ネットワーク解析などプロテオーム的アプローチも補完的に必要であることはいまでもない。さらに、今後のありふれた生活習慣病の遺伝素因解明には、遺伝子配列変異のみならず、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ことも疑いなく<sup>31)</sup>、これによりはじめて糖尿病をはじめとする polygenic 型疾患の個人レベルでの素因パズルの解明が可能になると考える。

#### 文献

1. The 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
2. 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
3. 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
4. Scott L J, 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
5. 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
6. 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
7. 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
8. 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
9. 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
10. Müsigg 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
11. 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
12. 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
13. Kong A, Steinthorsdottir V, Masson G, et al : Parental origin of sequence variants associated with complex diseases. *Nature* **462** : 868-874, 2009
14. 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 U S A* **100** : 229-234, 2003
15. 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
16. 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
17. 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
18. 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
19. Pawitan Y, Seng KC, Magnusson PKE : How many genetic variants remain to be discovered? *PLoS One* **4** : e7969, 2009
20. Gloyn AI, McCarthy MI : Variation across the allele frequency spectrum. *Nat Genet* **42** : 648-650, 2010
21. Altshuler D, Daly MJ, Lander ES : Genetic mapping in human disease. *Science* **322** : 881-888, 2008
22. Metzker ML : Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet* **11** : 31-46, 2010
23. Mamanova L, Coffey AJ, Scott CE, et al : Target-enrichment strategies for next-generation sequencing. *Nat Methods* **7** : 111-118, 2010
24. Ng SB, Nickerson DA, Bamshad MJ, et al : Massively parallel sequencing and rare disease. *Hum Mol Genet* **19** : R119-124, 2010
25. Ng SB, Turner EH, Robertson PD, et al : Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature* **461** : 272-276, 2009
26. Ng SB, Buckingham KJ, Lee C, et al : Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nat Genet* **42** : 30-35, 2010
27. Choi M, Scholl UI, Ji W, et al : Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106** : 19096-19101, 2009
28. Voight BF, Scott LJ, Steinthorsdottir V, et al : Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. *Nat Genet* **42** : 579-589, 2010
29. Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I, et al : New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat Genet* **42** : 105-116, 2010
30. Poulsen P, Kyvik KO, Tung YC, et al : Heritability of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance-a population-based twin study. *Diabetologia* **42** : 139-145, 1999
31. Jin L, Wang H, Narita T, et al : Expression profile of mRNAs from human pancreatic islet tumors. *J Mol Endocrinol* **31** : 519-528, 2003
32. Wang H, Horikawa Y, Jin L, et al : Gene expression profile in rat pancreatic islet and RINm5F cells. *J Mol Endocrinol* **35** : 1-12, 2005



# 新しい糖尿病治療薬2 DPP-4阻害薬と他剤との併用療法

堀川幸男<sup>1)</sup>，武田 純<sup>2)</sup>

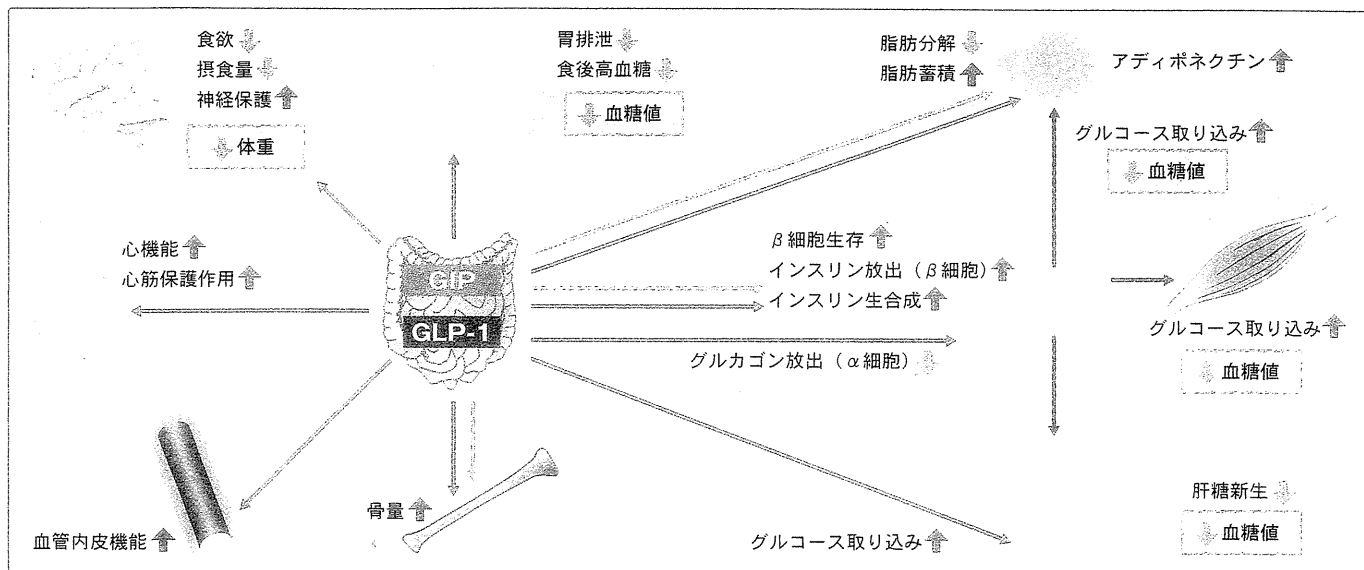
1) 岐阜大学大学院 医学系研究科 内分泌代謝病態学 臨床教授  
2) 岐阜大学大学院 医学系研究科 内分泌代謝病態学 教授

欧米人の2型糖尿病は、著明な肥満とともに高度なインスリン抵抗性を特徴とする一方、日本人の2型糖尿病の患者は比較的やせ型であり、インスリン抵抗性よりもインスリン分泌不全を一義的な特徴とする。少なくとも発症初期においては、インスリン分泌の初期反応が減弱して遅延型過反応となる結果、食後早期に血糖上昇をきたすことになる。この段階で、基礎分泌は正常であるために空腹時の血糖上昇はみられず、糖負荷試験で負荷後高血糖を呈する「かくれ糖尿病」の状態にある場合が多い。

最近、日本糖尿病学会は糖尿病の診断基準を新しく改訂した（「糖尿病の分類と診断基準に関する委員会報告」）。新基準では、HbA1c（JDS値）6.1%以上を糖尿病型とした点が改正点であり、血糖値の基準と併用することで、食後高血糖を示す患者を効率的に早期検出することが期待される。

糖尿病治療の基本は運動量の増加と食事療法による生活習慣の改善であることはいままでもないが、しばしば投薬治療が必要となり、ピグアナイド系薬（BG薬）、チアソリジン誘導体（TZD薬）、スルホニル尿素薬（SU薬）、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬（ $\alpha$ -GI）、インスリンなどが使用される。しかしこれらの血糖降下薬は、しばしば有害事象を引き起こし、投与中止など継続治療困難となる場合がある。すなわち、BG薬による消化器症状や乳酸アシドーシス、TZD薬による体重増加や浮腫、心不全、骨折、SU薬およびインスリンによる体重増加、低血糖などである。低血糖および体重増加は、最近の大規模研究、ACCORD、ADVANCE、VADTなどで証明されたように、心血管イベント発症の危険因子となるので注意が必要である<sup>1,2)</sup>。

そのため、食後高血糖の抑制に優れ、低血糖を惹起しない、より有害事象の少ない新しい糖尿病治療薬が望まれていたが、近年その願いを叶える新しい薬剤が臨床の場に登場した。それがGLP-1作用を高めるDPP-4阻害薬などのGLP-1関連製剤である。GLP-1関連製剤はインスリン分泌促進やグルカゴン分泌抑制など膵島機能（ $\alpha$ ,  $\beta$ 細胞とも）の改善作用と、体重減少を通しての間接あるいはGLP-1直接のインスリン抵抗性の改善によって血糖降下作用を示す<sup>3)</sup>。ただ、体重減少については、GLP-1アナログで認められるものの、DPP-4阻害薬では期待されるほどではない。実験動物での検討では、GLP-1は膵 $\beta$ 細胞の増殖作用を有し、一方、糖尿病では相対的に有意となる膵 $\alpha$ 細胞の増殖を抑制することも示唆されている。さらに、GLP-1受容体は心筋にも存在し、虚血状態での心筋保護にも作用するとされる。血管内皮細胞に働いて収縮期血圧を減弱することも示されている（図1）。したがって、これらの協調作用により、GLP-1は2型糖尿病や心血管イベントの抑制にも働くことが考えられる<sup>4)</sup>。



インクレチンの生理的機能

## DPP-4 阻害薬の併用候補薬剤

2型糖尿病の治療目標は、合併症発症の鍵を握る高血糖の改善である。血中グルコース代謝の破綻は、インスリン抵抗性、インスリン分泌不全、グルカゴン分泌の増加などにより引き起こされ、最終的には膵β細胞量の絶対的減少が起こる。日本人はインスリン分泌予備能が低いため、早期からの膵β細胞保護が重要と考えられ、なるべく少ないインスリン分泌で良好な血糖コントロールを図りたい。そこで、インスリン分泌節約から膵β細胞保護に繋がる、BG薬、TZD薬などのインスリン抵抗性改善薬の併用が、まずは適当と考えられる。

### BG薬およびTZD薬

抵抗性改善薬としては、BG薬およびTZD薬がまず挙げられる。BG薬にはメトホルミンとブホルミンの2剤があるが、乳酸アシドーシスなどの副作用の頻度から前者が汎用されている。日本での限度量は750 mgに設定されていたが、現在では高用量2250 mgも可能となった。BG薬とTZD薬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薬は糖新生の抑制が優れている。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薬として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薬よりも優位である。両剤は基本的に、食事療法と運動療法による効果が不十分な場合に使用される。TZD薬はHOMA-Rが4以上で、代償性のインスリン分泌能を保持する欧米人型で有効であり、一方のBG薬は、幅広いHOMA-R、β値で有効であり、日本人型の軽度抵抗性に適している(55)。

最近、メトホルミンの大規模前向き観察臨床研究「MORE」で、SU薬およびα-GIを併用しており、インスリン分泌不全を呈すると考えられる患者に対しても、メトホルミン併用によってHbA1cの低下が認められており、BMI 25以上の患者のみならず、BMI 20以下の患者でも同様にHbA1cの低下がみられたことより、メトホルミンの効果は、肥満のない患者において有効であることが再認識された<sup>6)</sup>。現在、肥満でインスリン抵抗性の強い欧米人ではBG薬が第1選択とされているが、日本人で通常みられる軽度の抵抗性でも有効であることから、筆者らはBG薬を第1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HOMA-Rを算定することが困難な場合が少なくない。したがって、BG薬投与を先行させ、抵抗性の改善が充分でない場合に少量のTZD薬(7.5～15 mg程度)を追加している。さらに第3世代の膵外作用を有し

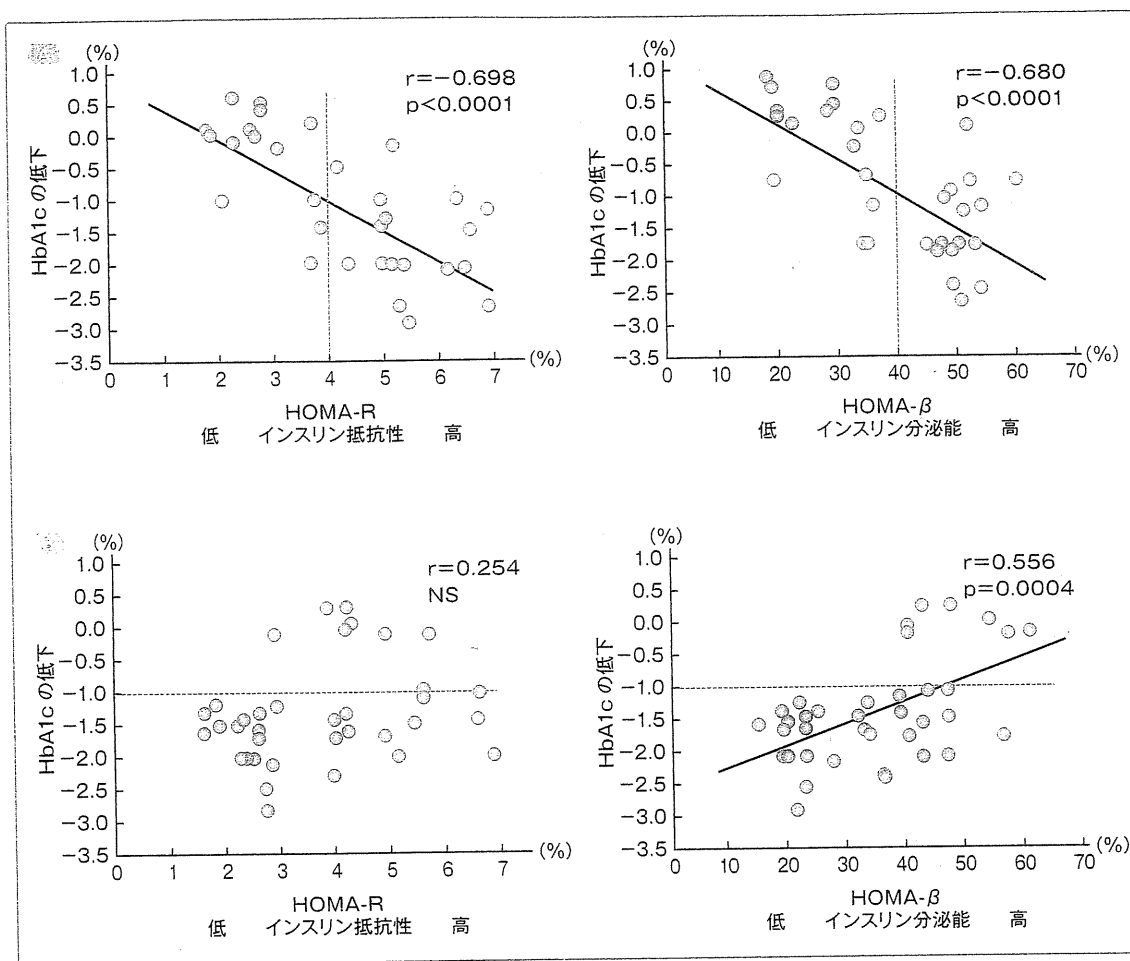


図3 日本人におけるBG薬とTZD薬の適応(文献5 改変)  
A:ピオグリタゾン(TZD薬) / B:メトホルミン(BG薬)

たSU薬の少量(グリメピリド0.5 mg)投与も、肥満が認められない患者にはインスリン抵抗性の解除を期する選択肢のひとつである。

### α-GI

他に、食後血糖値の上昇、さらに、その結果追加インスリン分泌を抑えて膵β細胞の保護を図る方法がある。糖尿病発症ではインスリンの初期分泌が障害されて遅延型となるため、食事由来のグルコース吸収も遅らせてインスリン分泌に同調させればよいという発想からα-GIが開発された。しかし、その後食後高血糖は心血管イベントの重要リスクであることが確立されてから<sup>7)</sup>、その改善の意義はさらに重要なものとなっている。さらにインクレチン効果も併せ持つという観点から、α-GIは単なる腸管での糖吸収遅延薬という位置づけから新たな展開をみせつつある薬剤であり、DPP-4阻害薬との併用は、低血糖が少ない血

糖変動の平坦化とインクレチン作用増強の観点から、きわめて興味深いと考えられる。

以下では実際の併用療法の効果を述べる。

## DPP-4阻害薬の臨床スタディ

### 単独療法<sup>3-15)</sup>

DPP-4阻害薬のビルダグリプチン、シタグリプチン、サクサグリプチン、アログリプチン単剤治療のスタディにおいては、ほとんどのもので、最短12週間投与でHbA1c 0.5 ~ 1.1%の低下がみられている。HbA1cの改善は1年間継続しており、またHbA1c前値が高いほど、効果も高くなっている。また、年齢や肥満度による効果の相違は認めら