

- 予想よりも多数の2型糖尿病感受性遺伝子が存在する
- 個々の遺伝子は低いオッズ比、低い浸透率
- 主働遺伝子は見つかっていない
- 40%程度と言われている糖尿病の遺伝率のたった4%説明
- 人口の99%が3割以上の危険アリルを所有するが糖尿病発症は8%程度

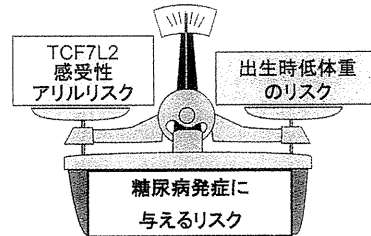


図1 ゲノムワイド関連解析で現在までに判明したこと

の確からしさが72%に上がるのみであった⁸⁾。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程糖尿病発症予測に貢献できないということである。

以下に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の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¹¹⁾、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。最近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¹²⁾や、全身ロ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¹³⁾。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いる¹⁴⁾。親起源のアリルをハプロタイプを用いて決定できれば、こうしたインプリンティング遺伝子の真の関連性、効果を判定できると考えられる。何故なら標準的な関連解析は、親起源特異的効果を示す疾患感受性変異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からである。実際deCODEが合計2,251人の2型糖尿病サンプルを用いた追加解析を施行したところ、遺伝子発現される母親由来のCアリルは有意に疾患と関連したが (OR = 1.30, p = 0.0084)、父親由来の場合には関連性を認めなかった (OR = 1.03, p = 0.71)。今後、あるいは既知のGWASのデータも親起源アリル毎の関連解析の観点で見直す必要もあるであろう¹⁵⁾。

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。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¹⁶⁾。10種類の7回膜貫通型受容体Fzdと共に受容体複合体を構成するもう1つの膜タンパク 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¹⁷⁾。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) でほぼ全て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。このTCF7L2のリスク多型はDPP (Diabetes Prevention Program) に参加しているIGT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いることが明らかとなった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⁾。さらに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⁾。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もとづくAKTの不活化、

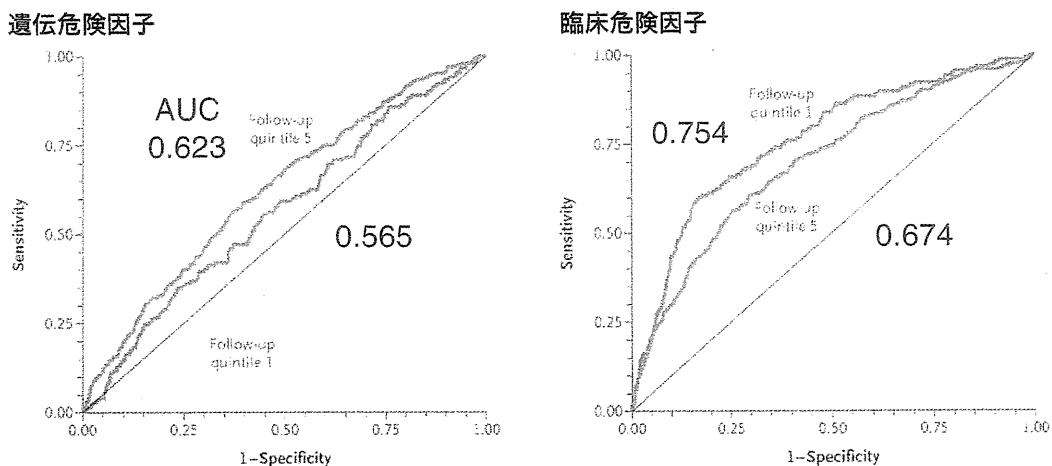
そしてFOXO1の活性化、GSK3の活性化、膵β細胞アポトーシスの増加が認められている²¹⁾。

GWASから分かったことは、白人のコホートを用いた検討により、疾患予測については10～18個の遺伝因子 (KCNQ1は含まれない) では、従来の臨床危険因子 (肥満、家族歴など) と比べて糖尿病の発症予測としての有用性は低いという報告もなされた^{9,10)}。しかし臨床危険因子に遺伝危険因子を足すことにより、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臨床危険因子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危険因子による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発症予測力が上がる臨床危険因子とは対照的である。従ってなるべく生下時に早く遺伝素因診断をすることは発症予測に有用であることは間違いない¹⁰⁾ (図2)。

B. 今後の糖尿病遺伝子探索法

我々はこれまで、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、次世代シーケンサーを用いたゲノムリシーケンスなどの方法論が必要になる。

種々の遺伝素因構造を仮定して遺伝率を説明できる原因遺伝子多型の数を考えてみる。GWASでは頻度の高い遺伝子多型をタイピングしているため、中～高の遺伝子効果の高頻度の多型を逃している可能性は低い。従って現在見つかっていないものは、効果の弱い高頻度の感受性アリルか、効果はどうであれ、低頻度の感受性アリルである。



観察期間が長い：遺伝危険因子の方がすぐれている
 観察期間が短い：臨床危険因子の方がすぐれている
 quintile 1：観察期間が短い
 quintile 5：観察期間が長い

図2 糖尿病発症予測における遺伝危険因子と臨床危険因子の貢献度 (文献10より改変)

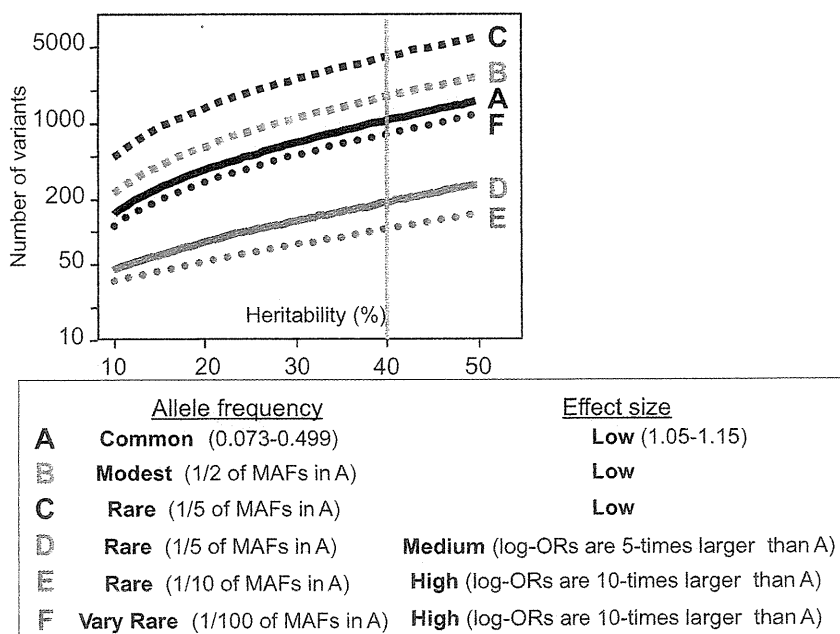


図3 種々の遺伝子構造モデルにおける糖尿病感受性アレルの予測数 (文献22より改変)

いま残りの感受性アレルがこれまで見つかった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。一方、もしオッズ比が2~4くらいで頻度がGWASの1/10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²²⁾ (図3)。

しかし現在のSNPアレイは頻度の低いSNPのタイピングには不適である。もし低頻度のSNPアレイが可能となり既存の全ゲノム関連解析の数

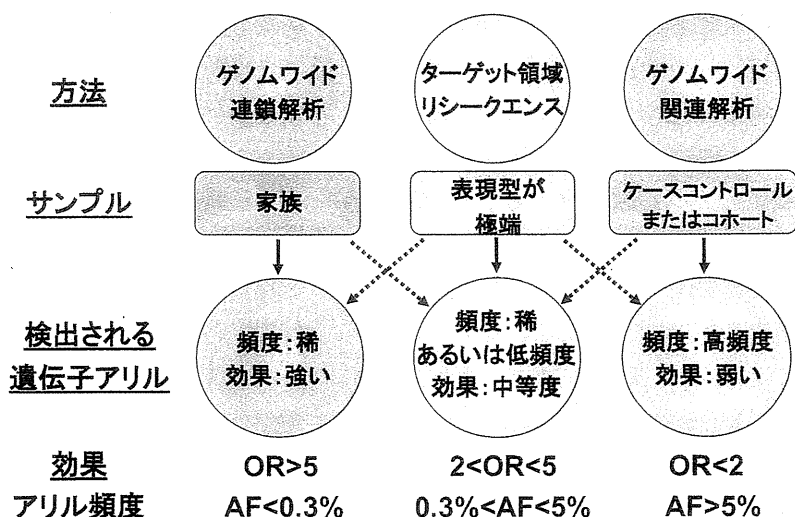


図4 疾患感受性遺伝子アリルの頻度と効果にもとづいた最適遺伝子同定法 (文献23より改変)

千くらいのサンプルなら、遺伝子効果の強い感受性遺伝子同定は可能となる。しかし、一方低頻度の感受性アリルは人類がアフリカを出た後、出現したものであり、民族特異的である可能性が高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。また同一人種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、むしろマイナスの方向に働くと考えられる。従って低頻度で遺伝子効果も強い感受性アリルは、若年発症あるいは家族性の糖尿病など、より均質な亜集団で探索することが最善と考えられる。またそこに遺伝子-遺伝子相互作用、遺伝子-環境相互作用を考え合わせることもまた同定を容易にするであろう。

上記より、現時点では高頻度で弱い効果の感受性アリ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同定遺伝子座の特化的、部分的全シーケンスあるいは全エクソンシーケンス (エクソーム) が、そしてさらに低頻度の大きな遺伝子効果のアリル同定には家族サンプルを用いた連鎖解析と、それに続く全エクソンシーケンスが最も有用であると考えられ

る²³⁾ (図4)。

最近では現在まで施行された複数のGWASを統合した発症に関するメタ解析や²⁴⁾、量的形質に関連する遺伝子多型を回帰分析で求める成績がよく発表されている²⁵⁾。これは糖尿病の発症までには単一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なら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等、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²⁵⁾。今後、量的形質と関連する遺伝素因には臨床の場において糖尿病体質を予測するツールとしての役割が臨床血中マーカー共々期待される。

C. エピジェネティック的アプローチ

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活習慣だけでなく、母体肥満、子宮内環境などの生前環

境因子が、生後の環境刺激への代謝応答形成に影響を与えていることは間違いない²⁶⁾。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持つ *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し、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言われてきたが、最近では一部のメチル化は減数分裂後も保たれるとの報告や、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^{27,28)}。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、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、ヒストンのメチル化、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きる。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、おそらくは数世代にわたり、生物の寿命をこえて続く潜在的なメカニズムの説明になる。

むすび

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。また集団遺伝学として得られたデータを個人に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素因の全貌が明らかにならない限り正確な

意味を持たないのである。従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役割を担っている。

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てきた。また低頻度の感受性アレルを同定し、タイピングすることも容易になるだけでなく、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²³⁾。

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)^{29,30)}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ー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。最後に今後のありふれた生活習慣病の遺伝素因解明には、配列変異(SNPs)のみならず、共に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こともはや疑いなく³¹⁾、これにより初めて糖尿病をはじめとする多遺伝子型疾患の個人レベルでの遺伝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*. 2007; 447: 661-78.
- 2) Sladek R, Rocheleau G, Rung J, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*. 2007; 445: 881-5.
- 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*. 2007; 316: 1336-41.
- 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*. 2007; 316: 1341-5.
- 5) 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*. 2008; 53: 174-80.
- 6) 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*. 2008; 93: 3136-41.
- 7) Yasuda K, Miyake K, Horikawa Y, et al. Variants in *KCNQ1* are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet*. 2008; 40: 1092-7.
- 8) 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*. 2009; 54: 236-41.
- 9) 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*. 2008; 359: 2208-19.
- 10) Lyssenko V, Jonsson A, Almgren P, et al. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008; 359: 2220-32.
- 11) 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*. 2008; 40: 1098-102.
- 12) Müssig K, Staiger H, Machicao F, et al. Association of type 2 diabetes candidate polymorphisms in *KCNQ1* with incretin and insulin secretion. *Diabetes*. 2009; 58: 1715-20.
- 13) 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*. 2009; 296: R1695-701.
- 14) Du M, Beatty LG, Zhou W, et al. Insulator and silencer sequences in the imprinted region of human chromosome 11p15.5. *Hum Mol Genet*. 2003; 12: 1927-39.
- 15) Kong A, Steinthorsdottir V, Masson G, et al. Parental origin of sequence variants associated with complex diseases. *Nature*. 2009; 462: 868-74.
- 16) 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*. 1998; 19: 379-83.
- 17) 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*. 2003; 100: 229-34.
- 18) Florez JC, Jablonski KA, Bayley N, et al. *TCF7L2* polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N Engl J Med*. 2006; 355: 241-50.
- 19) Pearson ER, Donnelly LA, Kimber C, et al. Variation in *TCF7L2* influences therapeutic response to sulfonylureas, A GoDARTs study. *Diabetes*. 2007; 56: 2178-82.
- 20) 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*. 2009; 52: 1298-307.
- 21) 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*. 2009; 18: 2388-99.
- 22) Pawitan Y, Seng KC, Magnusson PKE. How many genetic variants remain to be discovered? *PLoS One*. 2009; 4: e7969.
- 23) Gloyn AI, McCarthy MI. Variation across the allele frequency spectrum. *Nat Genet* 2010; 42:

- 648-50.
- 24) Voight BF, Scott LJ, Steinthorsdottir V, et al. Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. *Nat Genet.* 2010; 42: 579-89.
- 25) 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.* 2010; 42: 105-16.
- 26) 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.* 1999; 42: 139-45.
- 27) Dolinoy DC, Huang D, Jirtle RL. Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104: 13056-61.
- 28) Rassoulzadegan M, Grandjean V, Gounon P, et al. RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse. *Nature.* 2006; 441: 469-74.
- 29) Jin L, Wang H, Narita T, et al. Expression profile of mRNAs from human pancreatic islet tumors. *J Mol Endocrinol.* 2003; 31: 519-28.
- 30) Wang H, Horikawa Y, Jin L, et al. Gene expression profile in rat pancreatic islet and RINm5F cells. *J Mol Endocrinol.* 2005; 35: 1-12.
- 31) Estécio MR, Issa JP. Tackling the methylome: recent methodological advances in genome-wide methylation profiling. *Genome Med.* 2009; 1: 106-12.

