

Ameliorate Insulin Resistance in Diabetic ob/ob Mice. The 2013 International Conference on Diabetes and Metabolism & 5th Asian Association for the Study of Diabetes (AASD). Oral Presentation 2013.11.6-9 (Korea)

小倉かさね、長嶋一昭、庄司俊彦、佐藤雄一、田原裕美子、山野言、佐藤広規、杉崎和、小倉雅仁、向英里、藤本新平、稲垣暢也。リンゴ由来プロシアニジン類による糖尿病モデルマウスにおける抗糖尿病作用の検討。第56回日本糖尿病学会総会。ポスター、2013.5.16-18, 熊本

田原裕美子、藤本新平、杉崎和、小倉かさね、佐藤広規、山野言、佐藤雄一、向英里、小倉雅仁、長嶋一昭、稲垣暢也。Thioredoxin binding protein-2 (TBP-2)が膵β細胞で果たす役割についての検討。第56回日本糖尿病学会総会。口演、ポスター、2013.5.16-18, 熊本

佐藤広規、藤本新平、長嶋一昭、佐藤雄一、向英里、小倉雅仁、山野言、田原裕美子、小倉かさね、杉崎和、稲垣暢也。SrcはINS-1細胞のグルコキナーゼ活性を調節することによりインスリン分泌を制御する。第56回日本糖尿病学会総会。ポスター、2013.5.16-18, 熊本

佐藤雄一、藤本新平、向英里、佐藤広規、田原裕美子、小倉かさね、山野言、杉崎和、小倉雅仁、長嶋一昭、稲垣暢也。パルミチン酸はSrc活性化を介してNADPHオキシダーゼ由来のROS産生を増加させ膵β細胞機能低下をもたらす。第56回日本糖尿病学会総会。ポスター、2013.5.16-18, 熊本

田中大祐、長嶋一昭、原島伸一、小泉昭夫、稲垣暢也。日本人糖尿病多発家系における全エクソンシーケンスを用いた糖尿病発症原因遺伝子同定の試み。第56回日本糖尿病学会総会。ポスター、2013.5.16-18, 熊本

長嶋一昭、田中大祐、東元健、八木ひとみ、杉崎和、田原裕美子、小倉かさね、

佐藤規、佐藤雄一、山野言、副島英伸、稲垣暢也。新生児期低血糖合併Beckwith-Wiedemann症候群患者における病態形成機序の検討。第56回日本糖尿病学会総会。口演、2013.5.16-18, 熊本

Sato Y, Fujimoto S, Mukai E, Sato H, Tahara Y, Ogura K, Yamano G, Ogura M, Nagashima K, Seino Y, Inagaki N. Palmitate induces ROS production and β-cell dysfunction by activating NADPH oxidase via Src signaling. ADA Poster, 2013.6.21-25. 米国、シカゴ

近藤八重子、原田範雄、長嶋一昭、寒水孝、稲垣暢也。日本人における75gOGTT2時間後血糖寄与因子とその推定式の有用性。第110回日本内科学会総会。2013.4.12-14. ポスター、東京

Nagashima K, Yorifuji T, Tanaka D, Inagaki N. Genetic and functional analyses of KATP channel gene mutations in patients with neonatal diabetes in Japan. 第90回日本生理学会大会, Symposium, Oral presentation, 2013.3.27-29, 東京 (船堀)

浅井加奈枝、濱崎暁洋、和田啓子、福島徹、矢野真理子、佐々木真弓、渋谷公尊、長嶋一昭、幣憲一郎、稲垣暢也。低炭水化物食開始に伴う急速なインスリン減量によりケトアシドーシスを発症した1型糖尿病の一症例。第16回日本病態栄養学会年次学術集会。口演 2013.1.12-13, 京都

Sato Y, Fujimoto S, Mukai E, Sato H, Tahara Y, Ogura K, Yamano G, Ogura M, Nagashima K, Inagaki N. Palmitate induces beta-cell dysfunction by activating NADPH oxidase through via the Src kinase signaling. Innovative approaches to understanding pancreatic β-cell function. (Pancreatic β-cell ~ mini-Symposium ~ : 立命館シンポジウム), ポスター、2013.1.28

田中大祐、長嶋一昭、佐々木真弓、船越生吾、小泉昭夫、稲垣暢也。日本人糖尿病多発

家系における，全ゲノム連鎖解析および全エクソンシーケンスを併用した糖尿病発症原因遺伝子の同定. 第55回日本糖尿病学会年次学術集会(口演，パシフィコ横浜，2012/5/17)

長嶋一昭、佐々木真弓、田中大祐、稲垣暢也. 日本人新生児糖尿病の発症頻度、発症原因遺伝子および遺伝子変異部位による薬効変化に関する検討. 第55回日本糖尿病学会年次学術集会(シンポジウム，パシフィコ横浜，2012/5/18)

原島伸一、田中大祐、長嶋一昭、佐々木真弓、王宇、稲垣暢也. DPP-4阻害薬シタグリプチンが有効であったMODY3一家系. 第55回日本糖尿病学会年次学術集会(Poster，パシフィコ横浜，2012/5/17)

Tanaka D, Nagashima K, Sasaki M, Funakoshi S, Koizumi A, Inagaki N. Exome sequencing identifies a new diabetes susceptibility mutation in a Japanese family with highly aggregated type 2 diabetes. American Diabetes Association 72nd Scientific Sessions(Oral, Philadelphia, PA, 2012/6/9)

Tanaka D, Nagashima K, Sasaki M, Funakoshi S, Kondo Y, Koizumi A, Inagaki N. Exome sequencing identifies a susceptibility mutation in a Japanese family with highly aggregated type 2 diabetes. KYOTO UNIVERSITY Global COE "Center for Frontier Medicine" International (Symposium, Oral, Hyogo, Japan, 2012/10/5-6)

Sato Y, Fujimoto S, Mukai E, Sato H, Tahara Y, Ogura K, Yamano G, Ogura M, Nagashima K, Inagaki N. Palmitate induces beta-cell dysfunction by activating NADPH oxidase through via the Src kinase signaling. 9th International Diabetes Federation Western Pacific Region Congress / 4th Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes (Poster, Kyoto, Japan, 2012/11/26)

Tanaka D, Nagashima K, Sasaki M, Funakoshi S, Koizumi A, Inagaki N. Exome sequencing identifies a susceptibility mutation in a Japanese family with highly aggregated type 2 diabetes. 9th International Diabetes Federation Western Pacific Region Congress / 4th Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes(Oral, Kyoto, Japan, 2012/11/27)

Nagashima K, Yorifuji T, Sasaki M, Tanaka D, Ogura K, Sato H, Tahara Y, Yamano G, Sato Y, Sugizaki K, Ogura M, Inagaki N. Molecular analyses of Japanese patients with neonatal diabetes. 9th International Diabetes Federation Western Pacific Region Congress / 4th Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes(Oral, Kyoto, Japan, 2012/11/27)

Sato H, Fujimoto S, Nagashima K, Mukai E, Ogura M, Saoto Y, Yamano G, Tahara Y, Ogura K, Sgizaki K, Inagaki N. Src regulates insulin secretion by modulating glucokinase activity in INS-1 cells. 9th International Diabetes Federation Western Pacific Region Congress / 4th Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes(Poster, Kyoto, Japan, 2012/11/27)

Nagashima K, Tohru Yorifuji T, Sasaki M, Tanaka D, Inagaki N. Functional analysis of *KCNJ11* mutation in neonatal diabetes. *3th Asian Association for the Study of Diabetes (AASD)*. Oral presentation, 2011.7.22-24, 北京, 中国

Tanaka D, Nagashima K, Sasaki M, Yamada C, Funakoshi S, Akitomo K, Koizumi A, Inagaki N. Pedigree analysis of a highly aggregated Japanese families with diabetes mellitus. *American Diabetes Association, 71<sup>st</sup> Scientific Sessions*, Audio Poster Tour, 2011.6.24-28, San Diego, USA

長嶋一昭、依藤 亨、佐々木真弓、田中大祐、船越生吾、菱澤方洋、穂友絹美代、稲

垣暢也. 本邦における新生児糖尿病発症頻度および発症原因遺伝子に関する検討. 第54回日本糖尿病学会総会, 口演, 2011.5.19-21, 札幌

田中大祐、長嶋一昭、佐々木真弓、山田千積、船越生吾、穂友絹美代、菱澤方洋、小泉昭夫、稲垣暢也. 日本人糖尿病多発家系を用いた全ゲノム連鎖解析と疾患感受性遺伝子の同定. 第54回日本糖尿病学会総会, 口演, 2011.5.19-21, 札幌

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

4. 特許取得  
なし

5. 実用新案登録  
なし

6. その他  
なし

## 分担研究報告書

日本人糖尿病家族歴濃厚家系の全ゲノム連鎖解析および全エクソンシーケンスを併用した糖尿病関連遺伝子の同定

研究分担者 小泉 昭夫 京都大学医学研究科環境衛生学 教授

研究要旨：糖尿病は家族集積性が知られており、遺伝的負荷が高い疾患である。我々は、①遺伝的要因が強いと考えられる家系を解析することにより発症感受性遺伝子候補を見出し、②発症感受性遺伝子候補につきコホートをを用いて検証し、Population attributable risk を求め、糖尿病の予防あるいは創薬に資する知見を得る戦略を採用した。この戦略に基づき、糖尿病多発家系を用いて全ゲノム連鎖解析と全エクソンシーケンスを併用し、罹患者のみに集積するエクソン内塩基配列変化 7 個を絞り込んだ。絞り込んだ塩基配列変化につき日本人コホートデータの一般健常対照者と糖尿病患者にてタイピングしたところ、糖尿病患者において有意に多発する変異が 1 個(EEA1 遺伝子の N1072K 変異)見いだされ、同変異が糖尿病多発家系において発症感受性遺伝子である可能性が示唆された。別の 1 家系については罹患者 5 名および非罹患者 1 名につき全エクソンシーケンスを行い、罹患者のみに集積するエクソン内塩基配列変化 7 個につきコホートをを用いて検討した。結果、一般健常対照者に比して糖尿病多発家系発症者に有意に多発し、タンパク質機能に変化を与える可能性が示唆される 1 変異が存在し(GPR128 遺伝子の T314M 変異)、発症感受性遺伝子候補であると考えられた。現在、さらに新たな 1 型糖尿病多発家系につき計 6 名の全エクソンシーケンスを行っている。

### A. 研究目的

日本において糖尿病患者は多発しており、糖尿病合併症による社会的損失は深刻な問題である。糖尿病発症の遺伝的背景を解明し、発症予測、先制医療および発症後の個別化医療の基盤構築が急務である。現在までゲノムワイド相関解析により 60 以上の 2 型糖尿病感受性遺伝子座位が同定されたが、多数の座位の情報を集積しても糖尿病発症の遺伝的背景のごく一部(20%未満)を説明できるにすぎず、糖尿病発症予測への寄与は小さいものとなっている。また、遺伝形式が明らかな糖尿病多発家系においても、

MODY のように原因遺伝子が同定される例はわずかであり、日本人において糖尿病発症に影響する遺伝的背景の大部分は未知である。その一方で、次世代シーケンス技術による全エクソンシーケンスが急速な発展を遂げ、技術的にもコスト的にも実用可能となり、原因遺伝子が未同定であった数々の遺伝性疾患において原因変異が同定され、注目を集めている。本研究の目的は、日本人糖尿病多発家系の集積を基盤とし、全ゲノム連鎖解析および全エクソンシーケンスを行うことで罹患者に共有されるエクソン変異を網羅的に検出し、整備続けて

いる日本人コホートをを用いて一般人口での検証解析を行うことにより日本人における新規糖尿病発症関連遺伝子を絞り込み、同定することである。

## B. 研究方法

・ 遺伝的負荷の濃厚な家系の収集：京都大学医学部附属病院および共同研究施設で、3世代以上にわたる糖尿病多発家系を見出し、患者に参加協力を依頼した。家系発端者 66名の協力を得、うち罹患者が特に多発する家系から順に解析を開始した。

・ 罹患者の定義：家系解析および一般人口での検証にあたり、罹患者は(1)糖尿病診断歴、(2)75gOGTTで糖尿病型(3)HbA1c(NGSP)が6.5%以上のいずれかに該当する者と定義した。

・ 全ゲノム連鎖解析と全エクソンシーケンスを併用した疾患原因候補変異の選定：糖尿病多発家系の臨床情報を収集し、発端者および親族の末梢血検体からゲノムDNAを抽出した。3世代家系では、一般的に常染色体優性遺伝形式が仮定できる。そこで、マイクロサテライトマーカーを用いて家系全員の全ゲノムをタイピングし、常染色体優性モデルにてパラメトリック連鎖解析を行い、疾患と連鎖する領域を確定した。続いて、発端者ゲノムDNAを断片化し、全エクソン領域を濃縮し、次世代シーケンサーを用いてシーケンスを行った。連鎖領域に含まれる塩基配列変化のうち、Non-synonymousでありdbSNP131に未登録のものを候補変異として選択した。選択された変異はキャピラリーシーケンサーにて

再確認するとともに、家系内で罹患者のみにみられ非罹患者にはみられない変異を絞りこんだ。

・ 家系の複数名を用いた全エクソンシーケンスによる疾患原因候補変異の選定：研究開始後、次世代シーケンス技術の価格低廉化に伴い、複数名の全エクソンシーケンスが容易となった。このため、家系内の特徴的な罹患者および非罹患者を複数名選定し、全員の全エクソンシーケンスを行うことで、罹患者に全員に集積し非罹患者に存在しない疾患原因変異候補を選定する方法が可能となり平成24年度より解析開始した。全エクソンシーケンスにて、罹患者全員に集積し非罹患者に存在しない塩基配列変化のうち、Non-synonymousであり1000 genome projectで未検出あるいは頻度5%未満の変異を候補変異として選択した。

・ 一般人口での検証：秋田県能代市および岐阜県高山市において4000人以上におよぶ日本人ゲノムコホートデータを収集し、身体診察・既往歴・血液検査データの整理を完了した。非肥満(BMI<25)糖尿病患者67名および、5年間にわたり空腹時血糖<100mg/dlかつHbA1c<6.0%を維持した一般健常対照者105名をランダムに抽出し、候補変異についてゲノムDNAのタイピングを行った。

(倫理面への配慮)

本研究は京都大学大学院医学研究科「医の倫理委員会」の承認を得ており、すべての研究はヘルシンキ宣言に基づき行われている。

### C. 研究結果

研究実施は分担研究者 長嶋、田中らと行い、以下の結果を得た。

集積された糖尿病家族歴濃厚家系のうちの2家系と1型糖尿病の多発を認める1家系に関して検討を行った。前記2家系発端者に関して、既知糖尿病原因遺伝子である MODY1-6 (HNF4A 遺伝子・GCK 遺伝子・HNF1A 遺伝子・PDX1 遺伝子・HNF1B 遺伝子・NEUROD1 遺伝子) に関するスクリーニングをキャピラリーシーケンサーにて行った。一方の発端者に既知糖尿病感受性変異である HNF4A 遺伝子の T130I 変異が見いだされたため、同家系全員につき T130I 変異のタイピングを行い、変異保持者は連鎖解析から除外するか表現型を不知(Unknown)とした。連鎖解析を行い、染色体4番・5番・12番に LOD Score の高い領域を認め、fine-mapping を行い、連鎖領域を絞り込んだ。その結果、染色体4番・5番・12番それぞれに LOD Score 1.80 の連鎖領域をハプロタイプ解析により確定した。更に全エクソンシーケンスを併用し、連鎖領域内の Non-synonymous かつ dbSNP131 に未登録なエクソン変異を10個確認した。そのうち家系内糖尿病罹患者のみに集積する変異は7個であり、それらに関して一般健常対照者105名および非肥満(BMI<25)糖尿病患者67名において頻度を検討したところ、EEA1 遺伝子の N1072K 変異に関して一般健常者におけるアレル頻度が0.0% (0/210)であったのに対しBMI25未満の糖尿病患者67名におけるアレル頻度が優位な高値を認めた(2.9%, 4/134)。この結果は全エクソンシーケンスを用いて新規糖尿病原因候補遺伝

子候補を同定した成果として論文発表を行った (*Mol Genet Metab* 109:112-117, 2013)。

もう一方の家系の全エクソンシーケンスによる解析では、若年発症罹患者5名全員に集積し非罹患者に存在しない塩基配列変化のうち、Non-synonymous であり1000 genome project で未検出あるいは頻度1%未満の変異は14個検出され、うちキャピラリーシーケンサーでの変異の再検証にて糖尿病罹患者のみへの集積が確認されたのは7個であった。7個の塩基配列変化について、105名の一般健常者(岐阜県高山市コホートから)における頻度を検討したところ、日本人健常対照者における頻度が1%未満のものは2個存在し、稀な変異(mutation)と考えられた。このうち GPR128 遺伝子 T314M 変異については、2世代以上の糖尿病多発家系発端者65名において、一般健常者に比して有意に高い頻度で認められた(3.8% vs. 0.0%,  $p=0.007$  (Fisher の正確確率検定))。

さらに、1型糖尿病患者4名を有する特徴的な糖尿病家族歴濃厚家系についても、罹患者4名と家系内非罹患者2名について全エクソンシーケンス実験を現在行っており、罹患者に集積する塩基配列変化を網羅的に検出する予定である。

### D. 考察

糖尿病多発家系において、従来から行ってきた全ゲノム連鎖解析により連鎖領域を絞り込み領域内遺伝子を絞り込んでいく手法に加え、①全ゲノム連鎖解析および全エクソンシーケンスを併用して塩基配列変化を絞り込む方法、②家系内の特徴的な罹患者複数名と非罹患者を選定し全員の全エ

クソンシーケンスを行い罹患者に集積する塩基配列変化を絞り込む方法を用いた。いずれの方法を用いても、絞り込まれた変異の中に、家系内で罹患者にのみ集積し、一般健常者にて認められず、特徴的な糖尿病患者においては相当な頻度にて認められるものが存在した。当該変異は家系における糖尿病発症原因であり、かつ一般人口における糖尿病発症の遺伝的背景のひとつである可能性が示唆された。

#### E. 結論

研究期間を通じて、段階的に糖尿病発症原因遺伝子検索手法を進展させ、より効率的な疾患遺伝子検索法を模索した。その過程で EEA1 遺伝子変異を絞り込み、同遺伝子は糖尿病多発家系といった特徴ある糖尿病家系のみならず一般人口においても発症感受性遺伝子となっていることが示唆された。EEA1 遺伝子は初期エンドソームの機能に関与し、脂肪細胞において GLUT4 を介したブドウ糖取り込みを制御するという知見があることから、EEA1 遺伝子変異は脂肪組織におけるブドウ糖取り込みの低下を介して糖尿病発症に関与している可能性がある。GPR128 遺伝子に関しては、ヒトにおける RNAseq データベース (Illumina Body Map) にて肝臓での発現が示唆されているが、機能に関する知見は乏しく、糖尿病発症との関連につきさらに *in vitro* 解析にて明らかにする必要が考えられる。また、他の保有家系についても、全エクソン解析にて絞り込んだ糖尿病発症感受性遺伝子候補につき、日本人コホートデータでの頻度を検討し、一般人口における糖尿病発症の遺伝的背景に寄与する因子を明らかにする必

要がある。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Nanayakkara S, Senevirathna STMLD, Abeysekera T, Chandrajith R, Ratnatunga N, Gunarathne EDL, Yan J, Hitomi T, Muso E, Komiya T, Harada KH, Liu W, Kobayashi H, Okuda H, Sawatari H, Matsuda F, Yamada R, Watanabe T, Miyataka H, Himeno S, Koizumi A. An integrative study of the genetic, social and environmental determinants of chronic kidney disease characterized by tubulointerstitial damages in the North Central Region of Sri Lanka. *J Occup Health.* 2014 (in press)

Liu W, Senevirathna STMLD, Hitomi T, Kobayashi H, Roder C, Herzig R, Kraemer M, Voormolen MHJ, Cahova P, Krischek B, Koizumi A. Genome-wide association study identifies no major founder variant in Caucasian moyamoya disease. *J Genet.* 92:605-609, 2013

Hitomi T, Habu T, Kobayashi H, Okuda H, Harada KH, Osafune K, Taura D, Sone M, Asaka I, Ameku T, Watanabe A, Kasahara T, Sudo T, Shiota F, Hashikata H, Takagi Y, Morito D, Miyamoto S, Nakao K, Koizumi A. The moyamoya disease susceptibility variant RNF213 R4810K induces genomic instability by mitotic abnormality. *Biochem Biophys Res Commun.* 439:419-426, 2013

Hitomi T, Habu T, Kobayashi H, Okuda H, Harada KH, Osafune K, Taura D, Sone M, Asaka I, Ameku T, Watanabe A, Kasahara T, Sudo T, Shiota F, Hashikata H, Takagi Y, Morito D, Miyamoto S, Nakao K, Koizumi A. Downregulation of Securin by the variant

- RNF213 R4810K reduces angiogenic activity of induced pluripotent stem cell-derived vascular endothelial cells from moyamoya patients. *Biochem Biophys Res Commun.* 438:13-19, 2013
- Mitchell T, Johnson MS, Ouyang X, Chacko BK, Mitra K, Lei X, Gai Y, Moore DR, Barnes S, Zhang J, Koizumi A, Ramanadham S, Darley-Usmar VM. Dysfunctional mitochondrial bioenergetics and oxidative stress in Akita<sup>+</sup>/Ins2-derived  $\beta$ -cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 305:E585-E599, 2013
- Liu W, Yin T, Okuda H, Harada KH, Li Y, Xu B, Yang J, Wang H, Fan X, Koizumi A, Miyata T. Protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism, is limited to Japanese. *Thromb Res.* 132:314-315, 2013
- Tanaka D, Nagashima K, Sasaki M, Funakoshi S, Kondo Y, Yasuda K, Koizumi A, Inagaki N. Exome sequencing identifies a new candidate mutation for susceptibility to diabetes in a family with highly aggregated type 2 diabetes. *Mol. Genet. Metabol.* 109:112-117, 2013
- Yan JX, Takahashi T, Ohura T, Adachi A, Takahashi I, Ogawa E, Okuda H, Kobayashi H, Hitomi T, Liu WY, Harada KH, Koizumi A. Combined linkage analysis and exome sequencing identifies novel genes for familial goiter. *J Hum Genet.* 58:366-377, 2013
- Kobayashi H, Yamazaki S, Takashima S, Liu W, Okuda H, Yan J, Fujii Y, Hitomi T, Harada KH, Habu T, Koizumi A. Ablation of Rnf213 retards progression of diabetes in the Akita mouse. *Biochem Biophys Res Commun.* 432:519-525, 2013
- Koizumi A, Kobayashi H, Liu W, Fujii Y, Senevirathna ST, Nanayakkara S, Okuda H, Hitomi T, Harada KH, Takenaka K, Watanabe T, Shimbo S. P.R4810K, a polymorphism of RNF213, the susceptibility gene for moyamoya disease, is associated with blood pressure. *Environ. Health Prev. Med.* 18:121-129, 2013
- Tanaka D, Nagashima K, Sasaki M, Funakoshi S, Kondo Y, Yasuda K, Koizumi A, Inagaki N. Exome sequencing identifies a new candidate mutation for susceptibility to diabetes in a family with highly aggregated type 2 diabetes. *Mol. Genet. Metabol.* 109(1): 112-117, 2013
- Ikeda Y, Ohta Y, Kobayashi H, Okamoto M, Takamatsu K, Ota T, Manabe Y, Okamoto K, Koizumi A, Abe K. Clinical features of SCA36: A novel spinocerebellar ataxia with motor neuron involvement (Asidan). *Neurology.* 79(4): 333-341, 2012
- Kobayashi H, Yamazaki S, Takashima S, Liu W, Okuda H, Yan J, Fujii Y, Hitomi T, Harada KH, Habu T, Koizumi A. Ablation of Rnf213 retards progression of diabetes in the Akita mouse. *Biochem Biophys Res Commun.* 432(3): 519-525, 2013
- Ikeda Y, Ohta Y, Kobayashi K, Okamoto M, Takamatsu T, Oota T, Manabe Y, Okamoto K, Koizumi A, Abe K. Clinical features of SCA36: a novel hereditary dominant spinocerebellar ataxia with motor neuron involvement (Asidan). *Neurology.* 79:333-341, 2012
- Abe K, Ikeda Y, Kurata T, Ohta Y, Manabe Y, Okamoto M, Takamatsu K, Ohta T, Takao Y, Shiro Y, Shoji M, Kamiya T, Kobayashi H, Koizumi A. Cognitive and affective impairments of a novel SCA/MND crossroad mutation *Asidan.* *Eur J Neurol.* 19:1070-1078., 2012
- Liu W, Hitomi T, Kobayashi H, Harada K, Koizumi A. Distribution of Moyamoya Disease Susceptibility Polymorphism p.R4810K in



RNF213 in East and Southeast Asian Populations. *Neurologia medico-chirurgica*, 35: 1-4, 2012

Tanaka D, Nagashima K, Sasaki M, Yamada C, Funakoshi S, Akitomo K, Takenaka K, Harada K, Koizumi A, M, Inagaki N. GCKR mutations in Japanese families with clustered type 2 diabetes. *Mol Genet Metab*. 102:453-60, 2011

Liu W, Morito D, Takashima S, Mineharu Y, Kobayashi H, Hitomi T, Hashikata H, Matsuura N, Yamazaki S, Toyoda A, Kikuta K, Takagi Y, Harada KH, Fujiyama A, Herzig R, Krischek B, Zou L, Kim JE, Kitakaze M, Miyamoto S, Nagata K, Hashimoto N, Koizumi A. Identification of RNF213 as a susceptibility gene for moyamoya disease and its possible role in vascular development. *PLoS One*. 6: e22542, 2011

Kobayashi H, Abe K, Matsuura T, Ikeda Y, Hitomi T, Akechi Y, Habu T, Liu W, Okuda H, Koizumi A. Expansion of intronic GGCCTG hexanucleotide repeat in NOP56 causes SCA36, a type of spinocerebellar ataxia accompanied by motor neuron involvement. *Am J Hum Genet*. 89:121-130, 2011

## 2. 学会発表

小林果、劉万洋、巖俊霞、藤井有希子、奥田裕子、人見敏明、原田浩二、小泉昭夫. *Mysterin* 遺伝子欠損は Akita マウスにおける糖尿病進行を遅延する. 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (Poster, 熊本市, 2013/5/16)

田中大祐、長嶋一昭、原島伸一、小泉昭夫、稲垣暢也. 日本人糖尿病多発家系における、全エクソンシーケンスを用いた糖尿病発症原因遺伝子同定の試み. 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 (Poster, 熊本市, 2013/5/16)

田中大祐、長嶋一昭、佐々木真弓、船越生吾、小泉昭夫、稲垣暢也. 日本人糖尿病多

発家系における、全ゲノム連鎖解析および全エクソンシーケンスを併用した糖尿病発症原因遺伝子の同定. 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 (横浜, 2012 年 5 月 17-19 日)

小林果、劉万洋、巖俊霞、藤井由希子、奥田裕子、人見敏明、原田浩二、小泉昭夫. *Mysterin* 遺伝子欠損による Akita マウス糖尿病進行の遅延. 第 83 回日本衛生学会総会 (金沢, 2013 年 3 月 24-26 日)

小泉昭夫. Searching a causative gene by next-generation sequencing in familial moyamoya cases. Asian Neurosurgical Conference on Moyamoya Disease (招待口演、京都、2011 年 6 月 2 日)

劉万洋、小林果、人見敏明、原田浩二、小泉昭夫. もやもや病に対する感受性遺伝子として *Mysterin* の同定. 第 82 回日本衛生学会総会 (口演、京都、2012 年 3 月 24-26 日)

人見敏明、森戸大介、劉万洋、小林果、原田浩二、永田和宏、小泉昭夫. もやもや病感受性遺伝子である ATPase/ユビキチンリガーゼ *Mysterin* の生化学的検討. 第 82 回日本衛生学会総会 (口演、京都、2012 年 3 月 24-26 日)

小林果、山崎悟、高島成二、人見敏明、劉万洋、原田浩二、小泉昭夫. ゼブラフィッシュモデルによるもやもや病感受性遺伝子 *mysterin* の機能解析. 第 82 回日本衛生学会総会 (口演、京都、2012 年 3 月 24-26 日)

小林果、阿部康二、松浦徹、池田佳生、人見敏明、土生敏行、劉万洋、奥田裕子、原田浩二、小泉昭夫. NOP56 遺伝子イントロンにおける 6 塩基リピート拡張は脊髄小脳変性症 36 型を引き起こす. 第 82 回日本衛生学会総会 (口演、京都、2012 年 3 月 24-26 日)

田中大祐、長嶋一昭、佐々木真弓、山田千

積, 船越生吾, 穂友絹美代, 菱澤方洋, 小泉昭夫, 稲垣暢也. 糖尿病多発家系を対象とした全ゲノム連鎖解析による疾患感受性遺伝子の検索. 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会 (口演、札幌、2011 年 5 月 19-21 日)

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

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

大規模日本人ゲノムコホートをを用いた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  
疾患ゲノム疫学 センター長

研究要旨： 疾患感受性遺伝子探索研究において解析基盤となるコホート整備は重要であり研究の成否を左右する。2005年に滋賀県長浜市と京都大学が締結したながはま0次予防コホート事業により長浜市民に参加者を募り、2010年に目標の1万人登録を達成し（登録者数10,082人）、2013年度までにSNPアレイ約4,000人、全エクソンシーケンス約1,000人、トランスクリプトーム解析約300人を行った。各種検診データおよび50ページにおよぶ質問紙調査により様々な健康状態・疾患と環境要因・遺伝要因との関連を解析している。本研究で絞り込まれた糖尿病発症原因遺伝子の一般人口との比較・検証解析のために、本コホートから全エクソンシーケンスデータ約1,000人分を使用し遺伝子解析を行った。

A. 研究目的

代表的な生活習慣病である糖尿病は、患者数増加が著明であり、その発症と合併症進行は患者 QOL を低下させ、医療経済的にも悪影響が懸念されるため社会問題となっている。糖尿病発症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を有する頻度により人種差が報告されていることから、日本人における検討は極めて重要である。疾患発症原因遺伝子の同定過程ではコホートデータを用いた検証解析が必要である。日本人糖尿病家族歴濃厚症例検体を用いた全ゲノムワイド連鎖解析、ハプロタイプ解析と全エクソンシーケンス併用により絞り込んだ糖尿病発症原因候補遺伝子変異に関して一般人口における頻度比較等による検証解析を行い、糖尿病発症との関連性に関して検証を行うことにより糖尿病発症原因となり得る候補遺伝子を検

証することが本分担研究の目的である。

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、ハプロタイプ解析および全エクソンシーケンス等により絞り込まれた糖尿病発症関連候補遺伝子に関して、本分担研究により一般人口における検証作業を行う。日本人コホートデータベース作成のため、京都大学医学研究科は滋賀県長浜市と協力してながはま 0 次予防コホート事業を行っており、その整備を継続する。そのデータ基盤をもとに、絞り込まれた糖尿病発症原因候補遺伝子変異に関して日本人一般人口における変異頻度の検証を行う。データ管理と解析には、

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。

(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、検体は匿名化およびデータ保管の厳格化により個人情報保守の厳守を徹底している。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り、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ことにある。

### C. 研究結果

本分担研究者が中心となり整備を進めているながはま 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、長浜市民約 1 万人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。2008 年より国民健康保険加入者を対象に健診事業を行い、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てきた。現時点でのコホートデータ集積状況は、長浜市人口 12 万人、対象年齢 30~74 才は 6 万人のうち、本スタディー参加登録者 1 万人超 (対象人口の約 15%) となっている。終了した「0 次健診」では、「通常健診」(問診、身体測定、診察、血圧測定、尿検査、血液検査：脂質、血糖値、肝機能等)に加え、「健康づくりに役立つ検査項目」として、中心血圧測定、呼吸機能測定、大動脈波速度測定、歯科検診、心電図検査、胸部レントゲン検査、眼底検査、PSA 検査等を設けている。以降、5 年ごとに調査が継続される。得られた検体と情報は、これまで同様、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。データベースアクセスのためにはあらかじめ登録された研究者の手のひら認証による PC ログイン方式をとっており、外部インターネット、プリンタ等非接続、USB 等でのデータ取り出し不可となっている。2013 年度までに SNP アレイ約 4,000 人、全エクソンシーケンス約 1,000 人、トランスクリプトーム解析約 300 人を完了し、各種検診データおよび 50 ページにおよぶ質問紙調査により様々な健康状態・疾患と環境要因・遺伝要因との関連を解析している。本研究で絞り込まれた糖尿病発症原因遺伝子の一般人口との比

較・検証解析のために、本コホートから全エクソンシーケンスデータ約 1,000 人分を使用し遺伝子解析した。また、糖尿病発症原因遺伝子の検証解析と並行して、ベースラインデータを用いた横断的研究として、(1) 健診集団における空腹時血糖値と HbA1c の関連の検討、(2) 健診集団における、インスリン分泌能・インスリン抵抗性の分布の検討、(3) 健診集団における、食習慣とインスリン分泌能・インスリン抵抗性の関連に関する検討、(4) 健診集団における、運動量・活動量とインスリン分泌能・インスリン抵抗性の関連に関する検討、(5) 健診集団における、体重変化量とインスリン分泌能・インスリン抵抗性の関連に関する検討を行い、糖尿病発症に関する生活習慣因子の関与についても検討行っている。

#### D. 考察

糖尿病発症原因遺伝子の絞り込みおよび同定のためのコホート整備は重要で、本研究におけるながはまコホート事業の推進は重要である。本コホート以外にも、研究班全体として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) のデータ蓄積・整備が行われており、上記豊富な日本人でのデータ基盤をもとに、今後も、解析継続予定である。

#### E. 結論

大規模日本人ゲノムコホートデータベースの整備を進め、コホートデータを集積し、ゲノム検体および種々の臨床情報を集積・整備した。本研究で絞り込まれた糖尿病発症原因遺伝子の一般人口との比較・検証解析のために、本コホートから全エクソンシ

ークエンスデータ約 1,000 人分を使用し解析を行った。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Tanaka K, Terao C, Ohmura K, Takahashi M, Nakashima R, Imura Y, Yoshifuji H, Yukawa N, Usui T, Fujii T, Mimori T, Matsuda F. Significant association between CYP3A5 polymorphism and blood concentration of tacrolimus in patients with connective tissue diseases. *J. Hum. Genet.* 2014 (in press)

Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Yoshida S, Graham RR, Manoharan A, Ortmann W, Bhangale T, Denny JC, Carroll RJ, Eyler AE, Greenberg JD, Kremer JM, Pappas DA, Jiang L, Yin J, Ye L, Su DF, Yang J, Xie G, Keystone E, Westra HJ, Esko T, Metspalu A, Zhou X, Gupta N, Mirel D, Stahl EA, Diogo D, Cui J, Liao K, Guo MH, Myouzen K, Kawaguchi T, Coenen MJH, van Riel PL CM, van de Laar MAFJ, Guchelaar HJ, Huizinga TWJ, Dieude P, Mariette X, Bridges Jr SL, Zhernakova A, Toes REM, Tak PP, Miceli-Richard C, Bang SY, Lee HS, Martin J, Gonzalez-Gay MA, Rodriguez-Rodriguez L, Rantapaa-Dahlqvist S, Arlestig L, Choi HK, Kamatani Y, Galan P, Lathrop M, the RACI consortium, the GARNET consortium, Eyre S, Bowes J, Barton A, de Vries N, Moreland LW, Criswell LA, Karlson EW, Taniguchi A, Yamada R, Kubo M, Liu JS, Bae SC, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Raychaudhuri S, Stranger BE, De Jager PL, Franke L, Visscher PM, Brown MA, Yamanaka H, Mimori T, Takahashi A, Xu H, Behrens TW, Siminovitch KA, Momohara S, Matsuda F, Yamamoto K, Plenge RM. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery.

*Nature* 2014 (in press)

Yamakawa N, Fujimoto M, Kawabata D, Terao C, Nishikori M, Nakashima R, Imura Y, Yukawa N, Yoshifuji H, Ohmura K, Fujii T, Kitano T, Kondo T, Yurugi K, Miura Y, Maekawa T, Saji S, Takaori-Kondo A, Matsuda F, Haga H, Mimori T. A Clinical, Pathological and Genetic Characterization of Methotrexate-Associated Lymphoproliferative Disorders. *J. Rheumatol.* 2014 (in press)

Yamamoto H, Higasa K, Sakaguchi M, Shien K, Soh J, Ichimura K, Furukawa M, Hashida S, Tsukuda K, Takigawa N, Matsuo K, Kiura K, Miyoshi S, Matsuda F, Toyooka S. Novel germline mutation in the transmembrane domain of HER2 in familial lung adenocarcinomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 2014 (in press)

Yamazaki T, Yamori M, Asai K, Nakano-Araki I, Yamaguchi A, Takahashi K, Sekine A, Matsuda F, Kosugi S, Nakayama T, Inagaki N, Bessho K; Nagahama Study Collaboration Group. Mastication and risk for diabetes in a Japanese population: a cross-sectional study. *PLoS One.* 8:e64113, 2013

Terao C, Bayoumi N, McKenzie CA, Zelenika D, Muro S, Mishima M; The Nagahama Cohort Research Group, Connell JM, Vickers MA, Lathrop GM, Farrall M, Matsuda F, Keavney BD. Quantitative Variation in Plasma Angiotensin-I Converting Enzyme Activity Shows Allelic Heterogeneity in the ABO Blood Group Locus. *Ann. Hum. Genet.* 77, 465-471, 2013

Terao C, Hashimoto M, Yamamoto K, Murakami K, Ohmura K, Nakashima R, Yamakawa N, Yoshifuji H, Yukawa N, Kawabata D, Usui T, Yoshitomi H, Furu M, Yamada R, Matsuda F, Ito H, Fujii T, Mimori T. Three groups in the 28 joints for rheumatoid arthritis synovitis--analysis using more than

17,000 assessments in the KURAMA database. *PLoS One.* 8, e59341, 2013

Terao C, Yoshifuji H, Ohmura K, Murakami K, Kawabata D, Yurugi K, Tazaki J, Kinoshita H, Kimura, Akizuki M, Kawaguchi Y, Yamanaka H, Miura Y, Maekawa T, Saji H, Mimori T, Matsuda F. Association of Takayasu arteritis with HLA-B\*67:01 and two amino acids in HLA-B protein. *Rheumatol.* 52, 1769-1774, 2013

Terao C, Yoshifuji H, Kimura A, Matsumura T, Ohmura K, Takahashi M, Shimizu M, Kawaguchi T, Chen Z, Naruse TK, Sato-Otsubo A, Ebana Y, Maejima Y, Kinoshita H, Murakami K, Kawabata D, Wada Y, Narita I, Tazaki J, Kawaguchi Y, Yamanaka H, Yurugi K, Miura Y, Maekawa T, Ogawa S, Komuro K, Nagai R, Yamada R, Tabara Y, Isobe M, Mimori T, Matsuda F. Two susceptibility loci to Takayasu arteritis reveal a synergistic role of the IL12B and HLA-B regions in a Japanese population. *Am. J. Hum. Genet.* 93, 289-297, 2013

Plenge RM, Greenberg JD, Mangravite LM, Derry JM, Stahl EA, Coenen MJ, Barton A, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Mariette X, Moreland LW, Bridges Jr, de Vries N, Huizinga TW, Guchelaar HJ, International Rheumatoid Arthritis Consortium (INTERACT), Friend SH, Stolovitzky, G. Crowdsourcing genetic prediction of clinical utility in the Rheumatoid Arthritis Responder Challenge. *Nat. Genet.* 45, 468-469, 2013

Cui J, Stahl EA, Saevarsdottir S, Miceli C, Diogo D, Trynka G, Raj T, Mirkov MU, Canhao H, Ikari K, Terao C, Okada Y, Wedrén S, Askling J, Yamanaka H, Momohara S, Taniguchi A, Ohmura K, Matsuda F, Mimori T, Gupta N, Kuchroo M, Morgan AW, Isaacs JD, Wilson AG, Hyrich KL, Herenius M, Doorenspleet ME, Tak PP, Crusius JB, van der Horst-Bruinsma IE, Wolbink GJ, van Riel PL,

- van de Laar M, Guchelaar HJ, Shadick NA, Allaart CF, Huizinga TW, Toes RE, Kimberly RP, Bridges SL Jr, Criswell LA, Moreland LW, Fonseca JE, de Vries N, Stranger BE, De Jager PL, Raychaudhuri S, Weinblatt ME, Gregersen PK, Mariette X, Barton A, Padyukov L, Coenen MJ, Karlson EW, Plenge RM. Genome-wide association study and gene expression analysis identifies CD84 as a predictor of response to etanercept therapy in rheumatoid arthritis. *PLoS Genet.* 9, e1003394, 2013
- Terao C, Ohmura K, Kawaguchi Y, Nishimoto T, Kawasaki A, Takehara K, Furukawa H, Kochi Y, Ota Y, Ikari K, Sato S, Tohma S, Yamada R, Yamamoto K, Kubo M, Yamanaka H, Kuwana M, Tsuchiya N, Matsuda F, Mimori T. PLD4 as a novel susceptibility gene for systemic sclerosis in a Japanese population. *Arthritis Rheum.* 65, 472-480, 2013
- Wakai K, Matsuo K, Matsuda F, Yamada R, Takahashi M, Kawaguchi T, Yatabe Y, Ito H, Hosono S, Tajima K, Naito M, Morita E, Yin G, Sakamoto T, Takashima N, Suzuki S, Nakahata N, Mikami H, Ohnaka K, Watanabe Y, Arisawa K, Kubo M, Hamajima N, Tanaka H; for the J-MICC Study Group. Genome-wide association study of the genetic factors related to confectionery intake: potential roles of the ADIPOQ gene. *Obesity (Silver Spring)*. 2013 *in press*
- Yoshimura K, Nakayama T, Sekine A, Matsuda F, Kosugi S, Sugino Y, Yoshimura K, Ogawa O; Nagahama Cohort Research Group. Prevalence of postmicturition urinary incontinence in Japanese men: Comparison with other types of incontinence. *Int J Urol*. 2013 *in press*
- Jia WH, Zhang B, Matsuo K, Shin A, Xiang YB, Jee SH, Kim DH, Ren Z, Cai Q, Long J, Shi J, Wen W, Yang G, Delahanty RJ; Genetics and Epidemiology of Colorectal Cancer Consortium (GECCO); Colon Cancer Family Registry (CCFR), Ji BT, Pan ZZ, Matsuda F, Gao YT, Oh JH, Ahn YO, Park EJ, Li HL, Park JW, Jo J, Jeong JY, Hosono S, Casey G, Peters U, Shu XO, Zeng YX, Zheng W. Genome-wide association analyses in East Asians identify new susceptibility loci for colorectal cancer. *Nat Genet.* 45:191-196, 2013
- Terao C, Ohmura K, Kawaguchi Y, Nishimoto T, Kawasaki A, Takehara K, Furukawa H, Kochi Y, Ota Y, Ikari K, Sato S, Tohma S, Yamada R, Yamamoto K, Kubo M, Yamanaka H, Kuwana M, Tsuchiya N, Matsuda F, Mimori T. PLD4 as a novel susceptibility gene for systemic sclerosis in a Japanese population. *Arthritis Rheum.* 65:472-80, 2013
- Nakata I, Yamashiro K, Akagi-Kurashige Y, Miyake M, Kumagai K, Tsujikawa A, Liu K, Chen LJ, Liu DT, Lai TY, Sakurada Y, Yoneyama S, Cheng CY, Cackett P, Yeo IY, Tay WT, Cornes BK, Vithana EN, Aung T, Matsuo K, Matsuda F, Wong TY, Iijima H, Pang CP, Yoshimura N. Association of genetic variants on 8p21 and 4q12 with age-related macular degeneration in Asian populations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 53:6576-81, 2012
- Kawaguchi T, Sumida Y, Umemura A, Matsuo K, Takahashi M, Takamura T, Yasui K, Saibara T, Hashimoto E, Kawanaka M, Watanabe S, Kawata S, Imai Y, Kokubo M, Shima T, Park H, Tanaka H, Tajima K, Yamada R, Matsuda F; Takeshi Okanoue, Japan Study Group of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Genetic polymorphisms of the human PNPLA3 gene are strongly associated with severity of non-alcoholic fatty liver disease in Japanese. *PLoS One.* 7:e38322, 2012
- Fan Q, Barathi VA, Cheng CY, Zhou X, Meguro A, Nakata I, Khor CC, Goh LK, Li YJ, Lim W, Ho CE, Hawthorne F, Zheng Y, Chua D, Inoko H, Yamashiro K, Ohno-Matsui K, Matsuo K, Matsuda F, Vithana E, Seielstad M,

Mizuki N, Beuerman RW, Tai ES, Yoshimura N, Aung T, Young TL, Wong TY, Teo YY, Saw SM. Genetic variants on chromosome 1q41 influence ocular axial length and high myopia. **PLoS Genet.** 8:e1002753, 2012

Verhoeven VJ, Hysi PG, Saw SM, Vitart V, Mirshahi A, Guggenheim JA, Cotch MF, Yamashiro K, Baird PN, Mackey DA, Wojciechowski R, Ikram MK, Hewitt AW, Duggal P, Janmahasatian S, Khor CC, Fan Q, Zhou X, Young TL, Tai ES, Goh LK, Li YJ, Aung T, Vithana E, Teo YY, Tay W, Sim X, Rudan I, Hayward C, Wright AF, Polasek O, Campbell H, Wilson JF, Fleck BW, Nakata I, Yoshimura N, Yamada R, Matsuda F, Ohno-Matsui K, Nag A, McMahon G, St Pourcain B, Lu Y, Rahi JS, Cumberland PM, Bhattacharya S, Simpson CL, Atwood LD, Li X, Raffel LJ, Murgia F, Portas L, Despriet DD, van Koolwijk LM, Wolfram C, Lackner KJ, Tönjes A, Mägi R, Lehtimäki T, Kähönen M, Esko T, Metspalu A, Rantanen T, Pärssinen O, Klein BE, Meitinger T, Spector TD, Oostra BA, Smith AV, de Jong PT, Hofman A, Amin N, Karssen LC, Rivadeneira F, Vingerling JR, Eiriksdóttir G, Gudnason V, Döring A, Bettecken T, Uitterlinden AG, Williams C, Zeller T, Castagné R, Oexle K, van Duijn CM, Iyengar SK, Mitchell P, Wang JJ, Höhn R, Pfeiffer N, Bailey-Wilson JE, Stambolian D, Wong TY, Hammond CJ, Klaver CC. Large scale international replication and meta-analysis study confirms association of the 15q14 locus with myopia. The CREAM consortium. **Hum Genet.** 131:1467-1480, 2012

Yoshimura K, Nakayama T, Sekine A, Matsuda F, Kosugi S, Yamada R, Shimizu Y, Kanematsu A, Yoshimura K, Ogawa O; Nagahama Cohort Research Group. B-type natriuretic peptide as an independent correlate of nocturnal voiding in Japanese women. **NeuroUrol Urodyn.** 31:1266-1271, 2012

Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K,

Suzuki A, Kawaguchi T, Stahl EA, Kurreeman FA, Nishida N, Ohmiya H, Myouzen K, Takahashi M, Sawada T, Nishioka Y, Yukioka M, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Tohma S, Takasugi K, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Matsuo K, Tanaka H, Tajima K, Suzuki T, Iwamoto T, Kawamura Y, Tanii H, Okazaki Y, Sasaki T, Gregersen PK, Padyukov L, Worthington J, Siminovitch KA, Lathrop M, Taniguchi A, Takahashi A, Tokunaga K, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Mimori T, Plenge RM, Yamanaka H, Momohara S, Yamada R, Matsuda F, Yamamoto K. Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. **Nat Genet.** 44:511-516, 2012

Akagi-Kurashige Y, Kumagai K, Yamashiro K, Nakanishi H, Nakata I, Miyake M, Tsujikawa A, Moriyama M, Ohno-Matsui K, Mochizuki M, Yamada R, Matsuda F, Yoshimura N. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and choroidal neovascularization in highly myopic eyes. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 53:2349-2353, 2012

Kato L, Begum NA, Burroughs AM, Doi T, Kawai J, Daub CO, Kawaguchi T, Matsuda F, Hayashizaki Y, Honjo T. Nonimmunoglobulin target loci of activation-induced cytidine deaminase (AID) share unique features with immunoglobulin genes. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 109:2479-2484, 2012

Okada Y, Shimane K, Kochi Y, Tahira T, Suzuki A, Higasa K, Takahashi A, Horita T, Atsumi T, Ishii T, Okamoto A, Fujio K, Hirakata M, Amano H, Kondo Y, Ito S, Takada K, Mimori A, Saito K, Kamachi M, Kawaguchi Y, Ikari K, Mohammed OW, Matsuda K, Terao C, Ohmura K, Myouzen K, Hosono N, Tsunoda T, Nishimoto N, Mimori T, Matsuda F, Tanaka Y, Sumida T, Yamanaka H, Takasaki Y, Koike T, Horiuchi T, Hayashi K, Kubo M, Kamatani N, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K. A



genome-wide association study identified AFF1 as a susceptibility locus for systemic lupus erythematosus in Japanese. *PLoS Genet.* 8:e1002455, 2012

Meziani R, Yamada R, Takahashi M, Ohigashi K, Morinobu A, Terao C, Hiratani H, Ohmura K, Yamaguchi M, Nomura T, Vasilescu A, Kokubo M, Renault V, Hirose K, Ratanajaraya C, Heath S, Mimori T, Sakaguchi S, Lathrop M, Melchers I, Kumagai S, Matsuda F. A trans-ethnic genetic study of rheumatoid arthritis identified FCGR2A as a candidate common risk factor in Japanese and European populations. *Mod Rheumatol.* 22:52-58, 2012

Terao C, Ikari K, Ohmura K, Suzuki T, Iwamoto T, Takasugi K, Saji H, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H, Matsuda F, Mimori T. Quantitative effect of HLA-DRB1 alleles to ACPA levels in Japanese rheumatoid arthritis: no strong genetic impact of shared epitope to ACPA levels after stratification of HLA-DRB1\*09:01. *Ann Rheum Dis.* 71(6):1095-1097, 2012

Nakata I, Yamashiro K, Yamada R, Gotoh N, Nakanishi H, Hayashi H, Akagi-Kurashige Y, Tsujikawa A, Otani A, Saito M, Iida T, Oishi A, Matsuo K, Tajima K, Matsuda F, Yoshimura N. Significance of C2/CFB variants in age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in a Japanese population. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 53(2):794-798, 2012

Yamashiro K, Mori K, Nakata I, Tsuchihashi T, Horie-Inoue K, Nakanishi H, Tsujikawa A, Saito M, Iida T, Yamada R, Matsuda F, Inoue S, Awata T, Yoneya S, Yoshimura N. Association of elastin gene polymorphism to age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Invest*

*Ophthalmol Vis Sci.* 52(12):8780-8784, 2011

Terao C, Ohmura K, Kochi Y, Ikari K, Maruya E, Katayama M, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Takasugi K, Matsuo K, Tajima K, Suzuki A, Yamamoto K, Momohara S, Yamanaka H, Yamada R, Saji H, Matsuda F, Mimori T. A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects. *Ann Rheum Dis.* 70(12):2134-2139, 2011

Toyoda H, Kumada T, Hayashi K, Honda T, Katano Y, Goto H, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F. Antiviral combination therapy with peginterferon and ribavirin does not induce a therapeutically resistant mutation in the HCV core region regardless of genetic polymorphism near the IL28B gene. *J Med Virol.* 83(9):1559-1564, 2011

Ratanajaraya C, Nishiyama H, Takahashi M, Kawaguchi T, Saito R, Mikami Y, Suyama M, Lathrop M, Yamada R, Ogawa O, Matsuda F. A polymorphism of the POLG2 gene is genetically associated with the invasiveness of urinary bladder cancer in Japanese males. *J Hum Genet.* 56(8):572-576, 2011

Matsuse M, Takahashi M, Mitsutake N, Nishihara E, Hirokawa M, Kawaguchi T, Rogounovitch T, Saenko V, Bychkov A, Suzuki K, Matsuo K, Tajima K, Miyauchi A, Yamada R, Matsuda F, Yamashita S. The FOXE1 and NKX2-1 loci are associated with susceptibility to papillary thyroid carcinoma in the Japanese population. *J Med Genet.* 48(9):645-648, 2011

Terao C, Ohmura K, Katayama M, Takahashi M, Kokubo M, Diop G, Toda Y, Yamamoto N; Human Disease Genomics Working Group; Rheumatoid Arthritis (RA) Clinical and Genetic Study Consortium, Shinkura R, Shimizu M, Gut I, Heath S, Melchers I, Manabe T, Lathrop M, Mimori T, Yamada R, Matsuda F. Myelin basic protein as a novel genetic risk factor in rheumatoid arthritis--a genome-wide study combined with immunological analyses. *PLoS One*. 6(6):e2045, 2011

Toyoda H, Kumada T, Tada T, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F. Impact of genetic polymorphisms near the IL28B gene and amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region on interferon sensitivity/resistance in patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol*. 83(7):1203-1211, 2011

Terao C, Yamada R, Ohmura K, Takahashi M, Kawaguchi T, Kochi Y; Human Disease Genomics Working Group; RA Clinical and Genetic Study Consortium, Okada Y, Nakamura Y, Yamamoto K, Melchers I, Lathrop M, Mimori T, Matsuda F. The human AIRE gene at chromosome 21q22 is a genetic determinant for the predisposition to rheumatoid arthritis in Japanese population. *Hum Mol Genet*. 20(13):2680-2685, 2011

Nakata I, Yamashiro K, Yamada R, Gotoh N, Nakanishi H, Hayashi H, Tsujikawa A, Otani A, Ooto S, Tamura H, Saito M, Saito K, Iida T, Oishi A, Kurimoto Y, Matsuda F, Yoshimura N. Genetic variants in pigment epithelium-derived factor influence response of polypoidal choroidal vasculopathy to photodynamic therapy. *Ophthalmology*. 118(7):1408-1415, 2011

Hayashi H, Yamashiro K, Nakanishi H, Nakata I, Kurashige Y, Tsujikawa A, Moriyama M, Ohno-Matsui K, Mochizuki M, Ozaki M, Yamada R, Matsuda F, Yoshimura N. Association of 15q14 and 15q25 with high myopia in Japanese. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 52(7):4853-4858, 2011

## 2.学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

なし

実用新案登録

なし

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 池田弘毅 医療法人社団正名会池田病院 院長

（研究分担者 池田正毅の逝去により研究期間途中から池田弘毅に研究分担者変更）

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行った。これまでに 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 名の研究協力承諾を得て検体および臨床データ等収集し、以後も継続的に臨床データ等収集を行った。同家系親族のデータ収集継続と新たな大家系の検索を継続している。

A. 研究目的

激増著しい糖尿病患者を抑制するためには、糖尿病発症に関与する発症原因遺伝子あるいは糖尿病感受性遺伝子を同定することが極めて有益となることは明らかである。また、糖尿病激増要因としての遺伝的背景を検討する上で、日本人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本全体研究で採用している研究戦略は有効であると考えられる。このような戦略により特殊な糖尿病患者集団から絞り込まれた候補遺伝子であっても、一般人口での検証により、より common な糖尿病の発症関連遺伝子となっているケースは過去にも報告され、最近でも本研究代表者 稲垣らが世界に先駆け同定したインスリン分泌機序の鍵分子  $K_{ATP}$  チャネルの構成サブユニット Kir6.2 遺伝子異常が、新生児糖尿病のみならず common な糖尿病発症素因となり得る可能性があることが分担研究者 長嶋らによって報告さ

れている (*Diabetologia* 56:2609-2618, 2013)。

本分担研究の目的は、本研究コンソーシアムで継続的に行っている糖尿病家族歴濃厚家系集積を進め、その後の全ゲノム連鎖解析、ハプロタイプ解析、全エクソンシーケンス等による糖尿病発症関連遺伝子絞り込みのための基盤を築くことである。当院通院患者におけ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行い、上記研究基盤への貢献を主たる目的としている。

B. 研究方法

昨年同様、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おり、池田病院倫理委員会および京都大学大学院医学研究科・医学部医の倫理委員会承認を受けている。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。

### C. 研究結果

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、発端者を含め複数の親族へ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、以後も継続的に臨床データの集積および親族への追加参加を募った。今後も継続的に患者集積を行っていく。

### D. 考察

忙しい日常臨床ではともすると聴取不十分となってしまう家族歴聴取に関して、特に細心の注意を払って糖尿病家族歴濃厚者を掘り起こしを行い、継続的に糖尿病家族

歴濃厚患者の研究参加を募っているが、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者を得ることの困難さが浮き彫りになっている。糖尿病家族歴濃厚家系の集積は本研究戦略のみならず将来的発展研究の際にも鍵となる要件であることは疑いなく、地道な集積継続が重要であると考ええる。

### E. 結論

日本人糖尿病発症原因遺伝子同定のため、家族歴濃厚家系の集積、臨床データの継続的収集を行った。疾患発症原因遺伝子探索には目的に即した患者・家系・親族データおよび検体の集積が重要である。

### 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

藤本寛太、浜本芳之、本庶祥子、河崎祐貴子、龍岡久登、松岡敦子、和田良春、池田弘毅、藤川潤、齋藤伊三雄、越山裕行. ピオグリタゾンは2型糖尿病患者の糖尿病性黄斑浮腫のリスクを上昇させる. 第56回日本糖尿病学会年次学術集会(口頭, 熊本市, 2013/5/17)

山口恵理子、浜本芳之、本庶祥子、河崎祐貴子、藤本寛太、龍岡久登、松岡敦子、和田良春、池田弘毅、越山裕行. 血清 BNP (1-32) 値に DPP-4 阻害薬が及ぼす影響の検討. 第56回日本糖尿病学会年次学術集会(口頭, 熊本市, 2013/5/18)

本庶祥子、浜本芳之、河崎祐貴子、龍岡久登、藤本寛太、松岡敦子、池田弘毅、和田良春、越山裕行. シタグリプチン併用によ