

厚生労働科学研究費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
平成 26 年度 分担研究報告書

分担研究課題

日本人妊娠糖尿病発症女性における糖尿病・妊娠糖尿病関連遺伝子に関する研究

研究分担者 宮越敬 慶應義塾大学医学部産婦人科 専任講師

研究要旨

2 型糖尿病と類似した病態を示す妊娠糖尿病 (GDM) の発症に遺伝要因の関与が指摘されている。しかしながら、これまで日本人女性における GDM 感受性遺伝因子の網羅的な解析は行われていない。平成 26 年度の目的は、前年度の予備検討結果をもとに塩基配列解析を行う糖尿病関連遺伝子を増やし、日本人 GDM および正常耐糖能 (NGT) の遺伝因子の検討を行うことである。具体的には、母体年齢をマッチさせた GDM193 例と正常耐糖能 (NGT) 328 例を対象とし、母体末梢血 DNA を用いて既知の T2DM 関連遺伝子 (73 遺伝子 : SNP 125 箇所) の遺伝子型を解析したところ、10 遺伝子 (SNP 12 箇所) において GDM および NGT 間でアレル頻度に有意差を認めた (オッズ比 : 1.41-2.15)。また、10 遺伝子中 5 遺伝子はこれまで未報告の GDM 関連遺伝子であり、SNP 解析が日本人女性における GDM 発症の病態解明につながる可能性が示唆された。

研究協力者

春日義史(慶應義塾大学 医学部産婦人科)  
秦健一郎(独立行政法人国立成育医療研究センター 周産期病態研究部)  
前原佳代子(独立行政法人国立成育医療研究センター 周産期病態研究部)

A. 研究目的

疾患の発症には遺伝要因と環境要因が関わっており、多くは両者が複雑に関与する多因子疾患である。2 型糖尿病 (T2DM) では、SNP 解析や全ゲノム関連解析 (genome wide association study) を中心とした分子遺伝学的解析手法を用いて疾患関連候補遺伝子の探索が行われ、隣細胞およびインスリン感受性関連の遺伝

因子のその病態への関与が指摘されている。

T2DM と類似した病態を示す妊娠糖尿病 (GDM) にも遺伝要因の関与が指摘されている。しかしながら、これまで日本人女性における GDM 感受性遺伝因子の網羅的な解析は行われていない。平成 25 年度の予備検討では、GDM および正常耐糖能群間でアレル頻度差を示す遺伝因子を認めた。本年度の目的は、塩基配列解析を行う糖尿病関連遺伝子を増やし、日本人 GDM および正常耐糖能 (NGT) の SNP 解析を行うことである。

B. 研究方法

2011年～2013年末までに当院で周産期管理を行った日本人単胎妊娠のうち、母体年齢をマッチさせた GDM193 例と正常耐糖能 (NGT) 328 例を解析対象とした。なお、GDM の診断には新診断基準を用い、明らかな糖尿病合併例は対象から除外した。また、対象例の臨床情報は当院の周産期データベースより抽出した。

分娩後に母体末梢血から DNA を抽出し、Sequenom 社の MassARRAY システムを用いて既知の T2DM 関連遺伝子 (75 遺伝子: SNP 142 箇所) の遺伝子型を解析した (表 1)。MassARRAY システムはマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法 (Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: MALDI-TOFMS) を使用しており、高い特異性と質量数の差に基づき正確なアレルの同定が可能であることを特徴としている。MassARRAY システムにて得られた遺伝子型をもとに case-control 関連解析および logistic 回帰分析を行い、GDM と有意な相関を示す遺伝子を抽出した。なお、 $P < 0.05$  の場合に統計学的有意差ありと判定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、「ヘルシンキ宣言」、「臨床研究に関する倫理指針」、「疫学研究に関する倫理指針」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、研究分担者の所属機関である慶應義塾大学医学部の倫理審査委員会の承認を得て実施された (承認番号 20130160)。また、本研究では研究協力者に新たな負担は発生せず、

かつ個人情報の保護に万全を期すことにより不利益も生じない。

### C. 研究結果

表 2 には両群の母体背景を示す。NGT 群に比べ GDM 群の BMI は有意に高値であり、肥満妊婦 (BMI  $\geq 25$ ) が高率であった。分娩週数に関して、統計学的には両群間に有意差を認めなかったが、臨床的には同等と考えられた。

母体末梢血 DNA を用いて 73 遺伝子 (SNP 125 箇所) の遺伝子型を決定できた。GDM および NGT 間において、10 遺伝子 (インスリン感受性関連: 7 遺伝子, インスリン分泌関連: 3 遺伝子) の SNP 12 箇所においてアレル頻度に有意差を認め、オッズ比は 1.41-2.15 であった (表 3)。特に 5 遺伝子は case-control 関連解析および logistic 回帰分析の双方において有意差を認めた。

### D. 考察

これまで欧米人を中心に GDM 発症に関連する遺伝子多型についての臨床研究が行われてきた。2013年に発表された systematic reviewによると 10 遺伝因子が GDM 関連遺伝因子として抽出された。具体的には、(1) インスリン分泌に關与する Transcription factor 7-like 2 (TCFL2)、Glucokinase (GCK)、Potassium inwardly rectifying channel, subfamily J, member 11 (KCNJ11)、CDK5 regulatory subunit associated protein 1-like 1 (CDKAL1)、

Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2 (IGFBP2)、Melatonin receptor 1B (MTNR1B)、( 2 ) インスリン感受性に關与する Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG)、Insulin receptor substrate 1 (IRS1)、( 3 ) その他、エネルギー代謝に關与する Adrenoceptor beta 3 (ADRB3)、炎症に關与する Tumor necrosis factor (TNF) である。

平成 25 年度に行った T2DM 關連 13 遺伝子に着目した SNP 解析では、膵臓形成に關与する遺伝因子において日本人 GDM および NGT 間でアレル頻度差を認めた。そこで平成 26 年度は、より多くの既報 T2DM 關連遺伝子に着目することとした。PubMed などのデータベースを用いて既報の T2DM 關連遺伝子を検索した結果、75 遺伝子 ( SNP 142 箇所 ) を抽出し SNP 解析を行った。

平成25年度の予備検討時には塩基配列解析に Invader法を採用したが、解析効率を上昇させるためにMassARRAYシステムを採用した。その結果、Invader法施行時に比べ短期間で解析を行うことができ、75 遺伝子( SNP 142箇所 )のうち73遺伝子( SNP 125箇所 )の遺伝子型決定に至った。なお、2遺伝子 ( SNP 17箇所 ) ではプライマー設計が困難であり、PCR反応が適切に行われなかった。

GDMおよびNGT間でアレル頻度に有意差を認めた10遺伝子中7遺伝子はインスリン感受性への關与が推測される遺伝子であり、本研究のGDM例におけるBMI高値・肥満高頻度という母体背景を反映したものと

考えられた。また、10遺伝子中5遺伝子はこれまでGDMとの關連が指摘されていない遺伝子であり、SNP解析が日本人女性におけるGDM発症の病態解明につながる可能性が示唆された(表4))。

## E. 結論

今回我々は、日本人妊婦を対象に既知の糖尿病關連候補遺伝子(計 73 遺伝子)について多型情報を取得し、GDM との關連を検討した。Case-control 關連解析および logistic 回帰分析により日本人 GDM 発症に關与する有力な候補遺伝因子(10 遺伝子)が抽出され、SNP 解析が日本人女性における GDM 発症の病態解明につながる可能性が示唆された。

## F. 参考文献

- Zhang C, Bao W, Rong Y, Yang H, Bowers K, Yeung E, et al. Genetic variants and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review. Human reproduction update. 2013;19:376-90.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Ikenoue S, Miyakoshi K, Saisho Y, Sakai K, Kasuga Y, Fukutake M, et al. Clinical impact of women with gestational diabetes mellitus by

the new consensus criteria: two year experience in a single institution in Japan. Endocr J. 2014;61:353-8.

- Migita O, Maehara K, Kamura H, Miyakoshi K, Tanaka M, Morokuma S, et al. Compilation of copy number variants identified in phenotypically normal and parous Japanese women. J Human Genetics. 2014;59:326-31.

## 2. 学会発表

- 宮越敬, 正木繭, 門平育子, 福武麻里絵, 池ノ上学, 春日義史, 他. 妊娠糖尿病合併妊婦の産後早期糖代謝異常の予測因子に関する検討. 第50回日本周産期新生児医学会総会・学術集会. 2014年.
- Miyakoshi K. Clinical features of gestational diabetes mellitus by the new consensus criteria: three year experience in a single institution in Japan. 46th International Congress on Pathophysiology of pregnancy. Tokyo.2014. 9.
- Miyakoshi K, Saisho Y, Fukutake M, Ochiai D, Matsumoto T, Minegishi K, et al. Antepartum clinical features associated with early postpartum glucose intolerance in gestational diabetes mellitus by the new criteria. 46th International

Congress on Pathophysiology of pregnancy. Tokyo.2014. 9.

- 宮越敬, 税所芳史, 福武麻里絵, 春日義史, 落合大吾, 松本直, 他. 妊娠糖尿病におけるインスリン導入リスク因子に関する検討. 第30回日本糖尿病妊娠学会年次学術集会. 2014年.
- 伊藤新, 税所芳史, 宮越敬, 福武麻里絵, 春日義史, 落合大吾, et al. 胎児肺成熟を目的としたベタメタゾン投与後の母体血糖管理に要したインスリン投与量に関する後方視的検討. 第30回日本糖尿病妊娠学会年次学術集会. 2014年.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得  
本年度はなし
2. 実用新案登録  
本年度はなし
3. その他  
本年度はなし

表 1 遺伝子解析を行った遺伝子一覧

---

• ADAMTS9	• DUSP9	• JAZF1	• SLC30A8
• ADIPOQ	• DGKB	• KCNJ11	• SPRY2
• ADRB3	• FAF1	• KCNK17	• SRR
• ANK1	• FTO	• KCNQ1	• SSR1-RREB1
• ANKRD55	• GCC1	• KLF14	• ST6GAL1
• AP3S2	• GCK	• KLHDC5	• TCF7L2
• ARAP1	• GCKR	• MAEA	• THADA
• ARL15	• GIPR	• MC4R	• TLE1
• BCL11A	• GLIS3	• MIR129-LEP	• TLE4
• BCAR1	• GPSM1	• MPHOSPH9	• TMEM154
• CILP2	• GRB14	• MTNR1B	• TP53INP1
• C2CD4A	• HHEX	• NOTCH2	• TSPAN8, LGR5
• C2CD4A, C2CD4B	• HMG20A	• PEPD	• UBE2E2
• CDC123, CAMK1D	• HMGA2	• PPARG	• VPS26A
• CDKAL1	• HNF1B	• PTPRD	• WFS1
• CDKN2A, CDKN2B	• HNF4A	• PRC1	• ZBED3
• CHCHD9	• IGF2BP2	• PROX1	• ZFAND3
	• IRS1	• PSMD6	• ZFAND6
	• ITGB6-RBMS1	• PTPRD	• ZMIZ1
		• RBM43, RND3	
		• RBMS1	

---

表2 正常耐糖能群および妊娠糖尿病の母体背景

		正常耐糖能 (N=328)	妊娠糖尿病 (N=193)
年齢	(歳)	35.5 ± 5.3	36.2 ± 5.9
妊娠前 BMI	(kg/m <sup>2</sup> )	20.5 ± 5.0	21.6 ± 4.4 <sup>#</sup>
肥満 (BMI ≥ 25)	(%)	5.2	15 <sup>#</sup>
分娩週数	(週)	38.5 ± 3.3	37.9 ± 4.5 <sup>#</sup>
児体重	(g)	2984 ± 471	2847 ± 599 <sup>#</sup>

数値：平均 ± 標準偏差もしくは%

<sup>#</sup>: P < 0.01

表3 妊娠糖尿病との関連を示した遺伝子

Case-control 関連解析

Near by Gene	<i>P</i>	オッズ比
DUSP9	0.003	1.52
MTNR1B	0.004	1.48
ANKRD55	0.005	1.44
HHEX/IDE	0.024	1.49
CILP2	0.039	1.56
FTO	0.044	1.61
SPRY2	0.044	1.31

ロジスティック回帰分析

Near by Gene	<i>P</i>	オッズ比
ANKRD55	0.0004	2.15
MTNR1B	0.003	1.82
MAEA	0.007	1.68
DUSP9	0.011	1.64
HHEX/IDE	0.035	1.52
MAEA	0.036	1.49
IGF2BP2	0.036	1.51
SRR	0.040	1.48
CILP2	0.048	1.60

表 4 遺伝因子の作用および妊娠糖尿病および 2 型糖尿病発症との関連

Near by Gene	インスリン作用 との関連	GDM 関連遺伝子 としての報告	日本人 2 型糖尿病関連 遺伝子としての報告
DUSP9	インスリン感受性	なし	あり
MTNR1B	インスリン分泌	あり	なし
ANKRD55	インスリン感受性	なし	なし
HHEX/IDE	インスリン分泌	あり	あり
CILP2	インスリン感受性	なし	あり
FTO	インスリン感受性	あり	あり
SPRY2	インスリン感受性	なし	あり
MAEA	インスリン感受性	なし	あり
IGF2BP2	インスリン感受性	あり	あり
SRR	インスリン分泌	あり	あり