

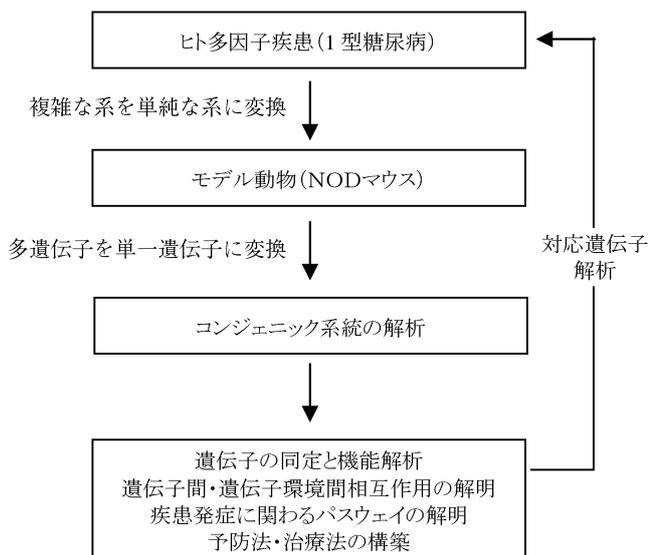
1型糖尿病遺伝子の機能解析に基づくテラーメイド医療の構築

●池上博司 ◆藤澤智巳 ◆川畑由美子

大阪大学大学院医学系研究科加齢医学講座

＜研究の目的と進め方＞

本研究では、ゲノム上にマップし、その局在を決定してきた1型糖尿病疾患感受性遺伝子の同定ならびに機能解析を行い、1型糖尿病体質を明らかにするとともに、体質に応じたテラーメイドの予防法・治療法を構築することを目的とした。具体的には1型糖尿病のモデル動物（NODマウス）において局在が決定され、ヒトにおいてもカウンターパートと疾患との関連が示唆されているMHC遺伝子およびnon-MHC遺伝子に関して責任となる変異・多型の同定を進めるとともに、モデル動物のコンジェニック系統を駆使して疾患感受性遺伝子の微細マッピング・同定・機能解析・ヒトへのフィードバックを進めた。



＜研究開始時の研究計画＞

MHC遺伝子：

最も強力な1型糖尿病感受性遺伝子である第17染色体上のMHC領域にあるIdd1, Idd16の局在をコンジェニック系統（NOD.CTS-H2）を駆使することによって限局し、領域内の候補遺伝子解析を進めるとともに、ヒト対応遺伝子（HLA領域のIDDM1）の解析を進める。

non-MHC遺伝子：

第3染色体上の疾患感受性遺伝子Idd3, Idd10をコンジェニック系統（NOD.IIS-Idd3, NOD.IIS-Idd10）を駆使することによって限局し、領域内の候補遺伝子解析を進めるとともにヒト対応遺伝子の解析を進める。

第1染色体上のIdd5（Idd5.1, Idd5.2）のヒト対応遺伝子CTLA4, SLOC11A1（NRAMP1）と1型糖尿病の関連を明らかにする。

＜研究期間の成果＞

1) 大規模研究のための共同研究体制の構築

マウスで同定した遺伝子のヒトカウンターパート解析において不可欠な、大規模研究を可能とするための国内共同研究体制（1）を構築するとともに、アジア全体へ展開する第一歩として、韓国との国際共同研究体制を構築した（2,3）。

2) MHC遺伝子：

MHC領域の1型糖尿病遺伝子の第2のコンポーネントであるIdd16のコンジェニックマッピングを進め（8,15）、領域内の候補遺伝子解析を行った結果、Idd16に抵抗性のアリルを有するNOD.CTS-H2コンジェニックマウスではクラスI MHCのK遺伝子がNODマウスのKdから一部がKkに置換したユニークな構造を有することが塩基配列レベルならびにモノクローナル抗体との反応特異性の両面から証明された（8）。この違いが疾患感受性の違いと相関することから、クラス。Kの遺伝子がIdd16の候補遺伝子であることが示唆された。MHC領域の1型糖尿病遺伝子の第2のコンポーネントであるIdd16のコンジェニックマッピング・候補遺伝子解析を進めた結果、クラス。Kの遺伝子レベル・タンパクレベルの多型がIdd16の候補であることを示した（8）。

ヒトHLAと1型糖尿病の関連における日本と欧米の違いについて解析するとともに（2）、HLAの遺伝子型と1型糖尿病との関連を詳細に解析した結果、DR4ハプロタイプは優性、DR9ハプロタイプは劣性遺伝様式を示し、DR9のホモが人種差を越えて極めて高いリスクを示すことを証明した（16）。

3) non-MHC遺伝子：

第1染色体上の疾患感受性遺伝子Idd5

NODマウスで第1染色体にマップされているIdd5.1のヒト対応遺伝子IDDM12の原因遺伝子である可能性が報告されたCTLA4遺伝子多型と1型糖尿病ならびに自己免疫性甲状腺疾患（AITD）との関連を多数例の検体を用いた多施設共同研究で検証した結果、1型糖尿病のなかでAITDを合併するサブタイプとのみ強い関連を示すことが明らかとなった（1）。

Idd5.2の候補遺伝子であるNramp1のヒト対応遺伝子SLOC11A1（NRAMP1）多型と1型糖尿病との間に有意の関連を認め、他の研究を加えて総括的に行ったメタ解析でも自己免疫疾患との有意の関連を見いだした（7）。

第3染色体上の疾患感受性遺伝子Idd3,Idd10:

Idd3に関してコンジェニックマッピングならびに候補遺伝子解析を進めた結果、Idd3の候補遺伝子Ii2およびIi21が疾患感受性に関与する可能性を示す結果を得た（11,15）。ヒト対応遺伝子の多型を抽出するとともに、1型糖尿病との関連を解析した（4）。

Idd10に関して、候補遺伝子であるFcgr1ならびにCd101遺伝子をNOD関連系統でスクリーニングし、NODマウスと同一のFcgr1アリルを有する関連系統IISで全塩基配列を決定した結果、Fcgr1がNODと同一、Cd101が

NODと異なる組換え染色体を有することが明らかとなった。この組換え染色体を導入したコンジュニックNODマウスを作出して機能解析を進めた結果、Fcgr1ではなくCd101が疾患感受性に関与する可能性が示された(6)。

その他の遺伝子

ヒトIDDM5の候補遺伝子SUMO4と1型糖尿病の関連を日本人および韓国人で解析した結果、有意の関連を認めた。欧米人を含めたメタ解析の結果、アジア人と欧米白人の間に遺伝的異質性が存在し、アジア人のみで関連を認め、欧米白人では関連がないことを見いだした(4)。

NODマウスの1型糖尿病遺伝子(Idd4)とStreptozotocin(STZ)誘発糖尿病の感受性遺伝子、さらには2型糖尿病のモデル動物NSYマウスの疾患感受性遺伝子(Nidd1n)が第11染色体上のオーバーラップする領域にマップされ、1型糖尿病、2型糖尿病、STZ糖尿病に共通する疾患感受性遺伝子である可能性を示した(6,9,12)。

遺伝子間相互作用

MHC遺伝子と非MHC遺伝子間の相互作用解明を目的として、MHC(Idd1)と非MHC遺伝子(Idd3)の候補遺伝子多型を共存させたマウスを作出し、機能解析を行った結果、この2つの遺伝子だけでは1型糖尿病やラ氏島炎を認めないことが明らかとなり、Idd1とIdd3は1型糖尿病関連の表現型発現に必要なではあるがこの2つだけでは十分でないことが証明された(11)。

〈国内外での成果の位置づけ〉

MHC遺伝子：

MHC領域の1型糖尿病遺伝子が複数のコンポーネントから構成されていること、クラスⅡ以外に第2の1型糖尿病遺伝子が存在することは我々が世界に先駆けて存在を見出した重要な現象であり、モデル動物における研究成果に基づいてヒトのカウンターパートも世界に先駆けて存在を見出してきた。現在、ヒト対応遺伝子に関しては国内共同研究グループでの解析を進めるとともに、国際コンソーシアムも組織されて国際共同研究が進行中である。

non-MHC遺伝子：

欧米で疾患への関与が示唆された遺伝子が、日本やアジア諸国では関与の仕方が異なる、あるいは同じ遺伝子の異なる多型が関与することが我々の研究を通じて明らかとなった。アジア特有の遺伝子・多型を同定解析し、日本人に最適のテラーメイド医療を構築するには、欧米での結果をそのまま取り入れるのではなく、アジア独自の解析結果を集積することが重要である。そのために不可欠の大規模研究のための国内共同研究組織(1)やアジアにおける国際共同研究システムの構築(2, 3)は内外で高く評価され、成果が期待されている。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

MHC以外の1型糖尿病遺伝子(non-MHC遺伝子)のように疾患に対するオッズ比が比較的小さい遺伝子の疾患への関与を証明するためには大規模サンプルを用いた解析が不可欠であることを痛感してきたことから、この点を克服する目的で1型糖尿病遺伝解析のための共同研究グループを構築し、多施設共同研究による大規模スタディーを行った結果、欧米とは異なる結果が得られ、大規模スタディーの重要性を再認識した。

〈今後の課題〉

本研究を通じて同定した以外のマウス1型糖尿病遺伝子およびそのヒトカウンターパートを同定し、その機能を明らかにすることが今後の研究課題である。HLA以外の遺伝子を同定・解析する上で不可欠の大規模研究を実施するための共同研究組織を本研究期間に構築でき、成果が既に出始めていることから(1)、これを駆使して日本人1型糖尿病に関与する遺伝子の全貌解明を進めて、臨床の場へテラーメイド医療としてフィードバックしたい。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1) 論文/プロシーディング(査読付きのものに限る)

1. Ikegami H, Awata T, Kawasaki E, Kobayashi T, Maruyama T, Nakanishi K, Shimada A, Amemiya S, Kawabata Y, Kurihara S, Tanaka S, Kanazawa Y, Mochizuki M, Ogihara T, Japanese Study Group on Type 1 Diabetes Genetics: The association of CTLA4 polymorphism with type 1 diabetes is concentrated in patients complicated with autoimmune thyroid disease: a multi-center collaborative study in Japan. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 (in press)
2. Ikegami H, Fujisawa T, Kawabata Y, Noso S, Ogihara T: Genetics of type 1 diabetes: similarities and differences between Asian and Caucasian populations. *Ann NY Acad Sci* 2006 (in press)
3. Noso S, Ikegami H, Fujisawa T, Kawabata Y, Asano K, Hiromine Y, Tsurumaru M, Sugihara S, Lee I, Kawasaki E, Awata T, Ogihara T: Genetic heterogeneity in association of SUMO4 M55V variant with susceptibility to type 1 diabetes. *Diabetes* 54: 3582-3586, 2005
4. Asano K, Ikegami H, Fujisawa T, Kawabata Y, Noso S, Hiromine Y, Ogihara T: Molecular The gene for human IL-21 and genetic susceptibility to type 1 diabetes in Japanese. *Ann NY Acad Sci* 2006 (in press)
5. Yamaji K, Ikegami H, Fujisawa T, Noso S, Nojima K, Babaya N, Itoi-Babaya M, Makino S, Sakamoto T, Ogihara T: Evidence for Cd101 but not Fcgr1 as candidate for type 1 diabetes locus, Idd10. *Biochem Biophys Res Commun* 331:536-542, 2005
6. Babaya N, Ikegami H, Fujisawa T, Nojima K, Itoi-Babaya M, Inoue K, Ohno T, Shibata M, Ogihara T: Susceptibility to streptozotocin-induced diabetes is mapped to mouse chromosome 11. *Biochem Biophys Res Commun* 328:158-164, 2005 (#0501281738)
7. Nishino M, Ikegami H, Fujisawa T, Kawaguchi Y, Kawabata Y, Shintani M, Ono M, Ogihara T: Functional polymorphism in Z-figure motif of promoter of SLC11A1 gene and type 1 diabetes in Japanese: association study and meta-analysis. *Metabolism* 54:628-633, 2005
8. Inoue, K., Ikegami, H., Fujisawa, T., Noso, S., Nojima,

K., Babaya, N., Itoi-Babaya, M., Makino, S., Ogihara, T: Allelic variation in class I K gene as candidate for a second component of MHC-linked susceptibility to Type 1 diabetes in non-obese diabetic mice, *Diabetologia* 47:739-747, 2004 (#0412281518)

9. Ikegami H, Fujisawa T, Ogihara T: Mouse models of type 1 and type 2 diabetes derived from the same closed colony: genetic susceptibility shared between two types of diabetes? *ILAR Journal* 45:267-276, 2004 (#0412281507)
10. Ji Q, Ikegami H, Fujisawa T, Kawabata Y, Ono M, Nishino M, Ohishi M, Katsuya T, Rakugi H, Ogihara T: A common polymorphism of uncoupling protein 2 gene is associated with hypertension. *J Hypertens* 22:97-102, 2004 (#0404021039)
11. Ikegami H, Fujisawa T, Sakamoto T, Makino S, Ogihara T: Idd1 and Idd3 are necessary but not sufficient for development of type 1 diabetes in NOD mouse. *Diab Res Clin Prac* 66S:S85-S90, 2004 (#0412281527)
12. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, Nojima K, Kawabata Y, Ono M, Nishino M, Noso S, Taniguchi H, Horiki M, Itoi-Babaya M, Babaya N, Inoue K, Ogihara T: Common genetic basis between type 1 and type 2 diabetes mellitus indicated by interview-based assessment of family history. *Diab Res Clin Prac* 66S:S91-S95, 2004 (#0412281535)
13. Horiki M, Ikegami H, Fujisawa T, Kawabata Y, Ono M, Nishino M, Shimamoto K, Ogihara T: Association of Pro12Ala polymorphism of PPAR γ gene with insulin resistance and related diseases. *Diab Res Clin Prac* 66S:S63-S67, 2004 (#0412281544)
14. Babaya N, Ikegami H, Fujisawa T, Nojima K, Itoi-Babaya M, Inoue K, Nakura J, Abe M, Yamamoto M, Jin J, Wu Z, Miki T, Fukuda M, Ogihara T: Association of I27L polymorphism of hepatocyte nuclear factor 1 α gene with high density lipoprotein cholesterol level. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2548-2551, 2003 (#0404021015)
15. Ikegami H, Fujisawa T, Makino S, Ogihara T: Congenic mapping and candidate sequencing of susceptibility genes for type 1 diabetes in the NOD mouse. *Ann NY Acad Sci* 1005:196-204, 2003 (#0404021028)
16. Kawabata Y, Ikegami H, Kawaguchi Y, Fujisawa T, Shintani M, Ono M, Nishino M, Uchigata Y, Lee I, Ogihara T: Asian-specific HLA haplotypes reveal heterogeneity of the contribution of HLA-DR and -DQ haplotypes to susceptibility to type 1 diabetes. *Diabetes* 51:545-551, 2002

2) データベース/ソフトウェア：該当なし

3) 特許など：該当なし

4) その他顕著なもの：該当なし

研究協力者：

能宗伸輔、馬場谷成、西野正紀、山路かおり、
堀木真由美、
浅野克明、廣峰義久、荻原俊男