

## II型糖尿病の遺伝要因のゲノム的解析と分子病態の解明

●蛭名 洋介 ◆岸 和弘 ◆小畑 利之 ◆湯浅 智之

徳島大学分子酵素学研究センター

### 〈研究の目的と進め方〉

II型糖尿病は複数の遺伝子異常が関与すると考えられる多遺伝子疾患である。しかし、昔は孤立した地域ごとに比較的少数の糖尿病発症遺伝子変異が集積していたと考える。これらの遺伝子変異は寿命が短かつ飽食でなかった時代には糖尿病を起こすまでには至らなかったと予想されるが、高齢化、飽食の時代になると、これら少数の遺伝子変異も糖尿病の病因となってきたと考えられる。そして近年になり交通の発達に伴い異なる地域の人々が婚姻関係を結ぶことにより、その子孫がより多くの病因遺伝子を獲得し、糖尿病などのより複雑な多遺伝子疾患が形成されていったと同時に患者も増加していったと考える。II型糖尿病の多発する孤立した地域の患者の遺伝子を検索すると少数の遺伝子変異により糖尿病になっている可能性が高いと予想される。又そのような遺伝子異常は多遺伝子疾患の中でも同定しやすい可能性がある。徳島県の山間部の病院では血縁関係のある糖尿病患者が集積している所があり、人的交流が少ないため比較的単純なしかも同じような遺伝子変異が病因となっている可能性が高いと考えられる。

本研究は地域特異性を利用してII型糖尿病の原因遺伝子の中でまず我々が独自に得たインスリンレセプターの多型を用い、糖尿病発症とポリモルフィズムの関連性を明らかにし、発症前診断による予防を可能にする。さらに複数の新規病因遺伝子を同定し分子病態の解明をすることを目的とする。

### 〈研究開始時の研究計画〉

今まで糖尿病患者の同胞解析が行われてきたが、原因遺伝子は解明されておらず、通常の方法では大規模な遺伝子スクリーニングが必要となる。また最近Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) 法などにより、発症関連遺伝子のポリモルフィズムと疾患発症との関連を見出そうとしている。究極的には糖尿病発症に関与する複数の原因遺伝子を解明することが重要となる。徳島県は全国でも糖尿病頻度が高く、その死亡率は5年連続1位である。山間部には糖尿病患者が集積している家系が多々見られるので、同意の上これらの患者の血液から染色体遺伝子を単離し、病状や検査dataに基づき、同じ様な原因で起こっていると思われるグループを大きく分類する(小畑担当)。多くの糖代謝関連遺伝子をSNPs法により糖尿病発症とポリモルフィズムの関連を検索する。さらにSSCP法などを用いてスクリーニングし(湯浅、蛭名担当)、さらにシーケンスすることによりこの地域における病因遺伝子変異を明らかにする。この変異は日本におけるII型糖尿病の原因遺伝子の一部になっている可能性が高く、SNPs法により発症前遺伝子診断法を確立し、その発症予防に貢献する。また複数の原因遺伝子を明らかにし糖尿病の分子病態の解明を行う。

### 〈研究期間の成果〉

最近インスリン受容体遺伝子イントロン中にポリAシグナル様配列が存在する人々がいることを発見し、それと糖尿病発症との関連を検索している。新規の複数の糖尿病候補遺伝子を得るプロジェクトも同時に開始している。インスリン刺激でリン酸化されるタンパク質群をプロテオーム解析によりcDNAの型で明らかにし糖尿病解明に役立てる。これは領域3(ゲノム生物学)の計画研究代表者である理研播磨研究所・谷口寿章博士のグループと共同研究で進めている。

### 〈国内外での成果の位置づけ〉

まだ、発表する成果は得られていない。

### 〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

2年間の研究継続しか認められなかったため、患者血液のサンプルの収集が間に合わず研究を打ち切らざるをえなかった。

### 〈今後の課題〉

特に患者サンプルを必要とする研究は、もう少し長い目で研究を続けないと成果は得られない。

### 〈研究期間の全成果公表リスト〉

- 1) Effects of losartan in combination with or without exercise on insulin resistance in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats  
Eur. J. Pharmacol. 430, 359-367 (2001)  
Keisuke Ishizawa, Masanori Yoshizumi, Koichiro Tsuchiya, Eiko Takishita, Yutaka Nakaya, Kazuhiro Kishi, Yousuke Ebina, Hitoshi Houchi, Kazuo Minakuchi, Toshiaki Tamaki
- 2) Antisense GLUT-1 protects mesangial cells from glucose induction of GLUT-1 and fibronectin expression  
Am J Physiol Renal Physiol 280, F657-666 (2001)  
Charles W. Heilig, Jeffrey I. Kreisberg, Svend Freytag, Takashi Murakami, Yousuke Ebina, Lirong Guo, Kathleen Heilig, Robert Loberg, Xuan qu, Ying Jin, Douglas Henry, and Frank C. Brosius III
- 3) Identification of a cis - Acting Element and a Noveltrans - Acting Factor of the Human Insulin Receptor Gene in HepG2 and Rat Liver Cells  
Biochem. Biophys. Res. Commun. 280, 428-434 (2001)  
Kazuaki Yoshizato, Tetsuya Shirotani, Noboru Furukawa, Tetsuya Taguchi, Hiroyuki Motoshima, Tetsushi Toyonaga, Yoshiaki Hirashima, Junji Kawashima, Yousuke Ebina, Motoaki Shichiri, and Eiichi Araki
- 4) AMP-activated protein kinase is activated by the

stimulations of Gq-coupled receptors  
Biochem. Biophys. Res. Commun. 276, 16-22 (2000)  
Kazuhiro Kishi, Tomoyuki Yuasa, Asako Minami,  
Mizuki Yamada, Akifumi Hagi, Hideki Hayashi, Bruce  
E. Kemp, Lee A. Witters, Yousuke Ebina

- 5) Activation of G-protein coupled fMLP or PAF receptor directly triggers glucose transporter type 1 (GLUT1) translocation in Chinese hamster ovary (CHO) cells stably expressing fMLP or PAF receptor  
The Journal of Medical Investigation 47, No.1,2 (2000)  
Akifumi Hagi, Hideki Hayashi, Kazuhiro Kishi, Lihong Wang and Yousuke Ebina
- 6) Overexpression of wild-type Akt1 promoted insulin-stimulated p70S6 kinase (p70S6K) activity and affected GSK3b regulation, but did not promote insulin-stimulated GLUT4 translocation or glucose transport in L6 myotubes  
The Journal of Medical Investigation 47, No.1,2 (2000)  
Satoshi Noda, Kazuhiro Kishi, Tomoyuki Yuasa, Hideki Hayashi, Tetuo Ohnishi, Ikuko Miyata, Hiromu Nishitani, and Yousuke Ebina
- 7) Gi-mediated translocation of GLUT4 is independent of p85/p110a and p110g phosphoinositide 3-kinases but might involve the activation of Akt kinase  
Biochem. J. 345, 543-555 (2000)  
Lihong Wang, Hideki Hayashi, Kazuhiro Kishi, Luping Huang, Akifumi Hagi, Keisuke Tamaoka, Phillip T. Hawkins and Yousuke Ebina