

糖尿病合併症家系図の構築と糖尿病合併症候補遺伝子の検索

● 柏木 厚典 (2001～2004年度)¹⁾ ● 吉川 隆一 (2000年度)¹⁾ ◆ 羽田 勝計^{1),2)} ◆ 古家 大祐¹⁾
◆ 荒木 信一¹⁾ ◆ 前田 士郎³⁾

1) 滋賀医科大学 内科学講座 2) 旭川医科大学 第二内科 3) 理化学研究所 遺伝子多型センター

＜研究の目的と進め方＞

糖尿病血管合併症（腎症・網膜症・神経障害・大血管障害）は、糖尿病患者のQuality of Life (QOL)を障害させるとともに、生命予後を左右する重要な要因である。近年の糖尿病患者数の増加に伴い、これら血管合併症により慢性腎不全、失明、心筋梗塞、脳梗塞などに罹患する患者数が激増していることは、医学的・医療経済的において重要な問題となっている。糖尿病血管合併症の重要な成因为高血糖であることは、大規模疫学研究の成績より明らかであるが、一方、血糖コントロールの如何にかかわらず合併症が発症・進展すること、合併症が家族内に集積することも明らかである。その結果、血管合併症の発症・進展に遺伝的素因の関与つまり合併症感受性遺伝子の存在が示唆され、感受性候補遺伝子の関連分析が多くの研究機関で行われてきた。しかしながら、疾患の診断基準の相違、患者選択による差異、人種差、小規模研究などの理由により、一定の結論が得られていないのが現状である。従って、合併症感受性遺伝子の同定には、合併症の正確な診断に基づいた大規模関連分析、前向き経過観察研究、合併症家系を用いた解析が不可欠と考えられる。さらに、糖尿病合併症は単一遺伝子異常疾患ではなく、複数の遺伝子異常と環境因子が複雑に関与する多因子疾患であると考えられるため、これまでの単一の遺伝子を標的とした探索方法では、感受性遺伝子の同定は難しく、新たな候補遺伝子探索の方法も必要である。

滋賀医科大学内科学講座（旧第三内科）では、糖尿病の教育・啓蒙及び合併症の発症・進展予防への新たな対策を講じるため、滋賀医科大学倫理委員会の承認及び患者の同意を得て、1996年より2型糖尿病患者を対象とした糖尿病血管合併症前向き経過観察研究を行っている。①そこで、前向きコホート研究による糖尿病合併症感受性遺伝子の解明を目的とし、糖尿病血管合併症前向き経過観察研究を経年的に継続することにより、一定の基準に基づいた臨床検査データ・正確な合併症診断・白血球DNA抽出・血清および尿サンプルの保存を経年的に蓄積する。その結果、経年的に蓄積された正確な臨床診断に基づく前向き経過観察研究による合併症感受性候補遺伝子の候補遺伝子解析を行う。さらに、関連施設の糖尿病患者約2000例の臨床データ・DNAを用いた大規模関連解析を行う。②合併症家系図の構築・DNA採取を目指し、糖尿病患者の家系調査を実施するとともに、同意の得られた家系構成員からの臨床検査データ・DNA採取を行う。構築された糖尿病合併症家系データベースに基づき、transmission disequilibrium test (TDT)による候補遺伝子解析、同一家系内で合併症に対する罹患不一致同胞対 (discordance sib-pair: DSP)を用いた連鎖解析を行う。③新たな感受性候補遺伝子探索のため、糖尿病モデル動物の腎臓ならびにDSPより採取・不活化したヒトリンパ球を用い、DNAマイクロアレイ法により遺伝子発現プロファイルを作成し、腎症などの合併症の発症・進展に伴い遺伝子発現量に変化が認められる遺伝子群を同定する。

④前向き経過観察研究登録患者を用いて、理化学研究所・前田博士との共同研究により同定された糖尿病性腎症関連SNPsの臨床的意義を探索。

これらゲノム研究の統合によって、ゲノム情報を基盤とした新たな糖尿病血管合併症に対する治療法の開発への展開を目指す。

＜研究開始時の研究計画＞

1. 前向き経過観察研究

滋賀医科大学内科学講座（旧第三内科）では、1996年より2型糖尿病患者を対象とした前向き経過観察研究を行っている。前向き経過観察研究による合併症感受性遺伝子の検索を推進していくためには、正確な診断基準に基づく経年的臨床データの集積が不可欠であるが、一般の外来診療においては、患者数の増加による診療時間不足や、個々の医師の診療方針の違い・専門性により一定の基準による臨床データの収集が困難となることが多い。そこで、一般の外来診療とは別に、糖尿病血管合併症に関する検査等を漏なく実施する特殊専門外来（担当医師1名、看護師1名、検査技師1名、事務1名から構成する）を開設し、前向き経過観察研究参加患者には経年的に受診いただき、一定の診断基準に基づいた臨床検査データの収集、白血球DNA・血清・尿サンプルの保存を行う。そこで集積される経年的臨床データより、日本人2型糖尿病患者の糖尿病血管合併症の発症・進展様式を明らかにし、経過観察研究に基づく合併症感受性候補遺伝子の検索を行う。

研究代表者らは、これまでに合併症の発症機構を解明するため、高血糖に起因する細胞内情報伝達異常、酸化ストレス、インスリン抵抗性に関して基礎研究を進めてきた。そこで、合併症発症・進展に重要な因子である酸化ストレス亢進・細胞外基質産生亢進・脂質代謝異常に着目し、これらの系に関与する遺伝子群を感受性候補遺伝子として、これら遺伝子群の遺伝子多型を公開Websiteにて検索するとともに、新たな遺伝子多型を直接シーケンス法により同定する。同定された遺伝子多型と糖尿病血管合併症との関連性を前向き経過観察研究参加者を対象に検討する。

2. 大規模関連研究

大規模関連研究を実施するため、既に我々は、関連施設の協力により、関連施設に通院中の約2000名の2型糖尿病患者の同意を得て、臨床データ収集、白血球DNAを採取している。これらの症例を対象とした大規模関連研究を実施し、合併症感受性候補遺伝子の検索を行う。

3. 合併症家系図の構築

糖尿病合併症家系図を構築するため、前向き経過観察研究に参加されている2型糖尿病患者を対象に、両親ならびに同胞への糖尿病調査・DNA採取に関する協力を要請し、快諾いただいた患者家族の構成員の方々にアンケート調査を実施し、家系図を構築する。さらに、研究協力の承諾を得られた家系に対し、糖尿病関連検査（非糖尿病患者に対しては75gOGTTを行う）を実施するとともに

白血球DNA・血清・尿サンプルの採取を行う。その結果、構築された糖尿病合併症家系データベースに基づくtransmission disequilibrium test (TDT) による候補遺伝子解析、同一家系内で合併症に対する罹患不一致同胞対 (discordance sib-pair : DSP) を用いた連鎖解析を実施する基盤を構築する。

4. 新たな合併症感受性候補遺伝子の探索

①DNAマイクロアレイ法を用いた遺伝子発現プロファイルの作成：1.5、2.5、3.5、4.5月齢の糖尿病モデル動物であるdb/dbマウスとコントロールマウスであるdb/mマウスの腎臓よりmRNAを抽出し、DNAマイクロアレイ法を用いて遺伝子発現プロファイルを作成する。その結果、腎症の発症に伴い発現量の増加・減少をきたす遺伝子群を同定し、これら遺伝子群を新たな感受性候補遺伝子として検討を行う。

さらに、構築してきた糖尿病合併症家系データベースを用い、ともに糖尿病に罹患している同胞間で糖尿病合併症（主として腎症に重点をおく）を発症している者と、長期にわたる糖尿病罹病にもかかわらず合併症を発症していない同胞対を同定する。同定された罹患不一致同胞対からリンパ球を採取し、EB virusを用いて不死化リンパ球を作製する。不死化リンパ球を高糖濃度条件下で培養をおこない、mRNAを採取した後、DNAマイクロアレイ法を用いて遺伝子発現プロファイルを作成する。合併症罹患不一致同胞対間で発現量に差異の認められる遺伝子群を同定し、数組（最低3組）の合併症罹患不一致同胞対間で共通に発現量の異なっている遺伝子群を同定する。また、糖尿病モデル動物で得られた遺伝子発現プロファイルと比較することでより可能性の高い感受性候補遺伝子を同定する。

②早期腎症診断マーカーとしての新たな尿中標的物質の同定：

糖尿病長期前向き経過研究に経年的に参加されている症例の尿を用い、糖尿病性腎症の発症にともない増減する蛋白プロファイルをプロテインチップ法にて見出す。その結果、腎症の発症にともない尿中排泄が増減する蛋白を精製し、MS/MS法を用いて蛋白質の同定を行う。

③全ゲノム大規模SNP関連研究：研究分担者である理化学研究所の前田博士を中心に、糖尿病血管合併症を対象とし、約8万個の全ゲノムワイド1塩基多型 (SNP) を用いた大規模SNP関連解析を実施する。その結果、新たに同定された合併症感受性候補遺伝子が合併症の発症・進展に及ぼす影響を前向き経過観察研究にて検証する。

〈研究期間の成果〉

1. 前向き経過観察研究

研究期間中、長期前向き経過観察研究を経年的に継続し、2004年度末までに1140症例の臨床検査データ・白血球DNA・血清・尿サンプルの蓄積がなされた。

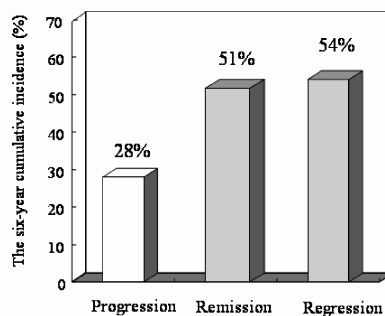
①微量アルブミン尿のremission/regression

長期前向き経過観察研究の結果、日本人2型糖尿病患者での血管合併症の発症・進展様式を解析することが可能なデータベースの構築がなされた。長期前向き経過観察研究に参加している微量アルブミン尿を呈する早期腎症患者 (216名) を6年間追跡調査した結果、正常アルブミン尿期へのremission (寛解) の6年間の累積発症率が51%、50%の尿中アルブミン排泄量の低下を指標としたregression (退縮) の6年間累積発症率が54%と、顕性腎症期への累積発症率28%に比較して高頻度に生じることが明らかとなった (図1) (ref.5)。

さらに、このremission/regressionを誘導するためには、

微量アルブミン尿発症早期からの厳格な血糖・血圧管理、レニン・アンジオテニン系阻害薬の使用が有効であることを見出した。また、日本糖尿病学会が推奨している血糖・血圧・脂質コントロールの治療目標値をより多く達成することにより、remission/regressionが得られやすくなることも明らかとなった。これまでは、腎症の発症・進展を指標とし、候補遺伝子の探索を行ってきたが、今後、腎症の発症・進展に関与する遺伝子の同定のみなら

図1. 6年間の累積発症率



ず、remission/regressionに関与する遺伝子群の同定を試みることが可能となった。

②APOE遺伝子

1996年から2001年までに3年以上経過観察された糖尿病患者を対象とした平均4年間の前向き経過観察研究において、アポリポ蛋白E (APOE) 遺伝子のe2対立遺伝子保有者では、非保有者に比較して糖尿病性腎症の発症率が約3倍と高率であることを明らかにした (表1) (ref. 3)。

表1. e2 対立遺伝子保有者の腎症に対する相対危険度

	進展群 (%)	非進展群 (%)	relative risk [95% CI]	adjusted O.R.* [95% CI]
e2 carriers	19 %	81 %	3.2 [1.5-6.7]	3.4 [1.3-8.9]
Non-carriers	6 %	94 %	1.0 [reference]	1.0 [reference]

*adjusted by T-cho, TG, BMI and the presence of diabetic retinopathy at baseline

③PKC-b遺伝子

これまでに我々は、糖尿病性腎症の発症・進展にPKC-bの活性異常が関与していることを報告してきた。そのため、腎症感受性候補遺伝子としてPKC-b遺伝子に着目し、プロモーター領域に6個、エクソン内に3個の遺伝子多型を新たに同定した (図2)。

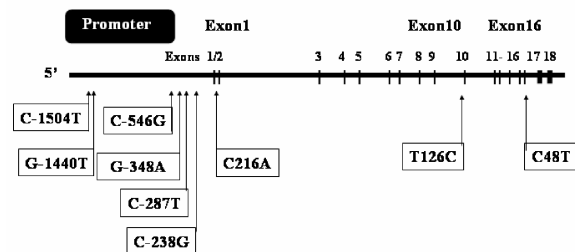
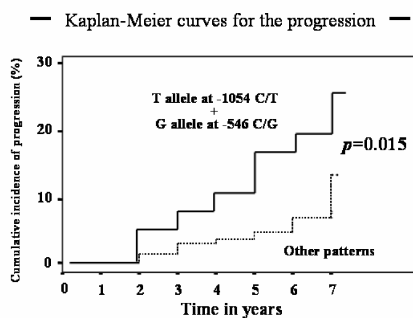


図2. PKC-β 遺伝子 (PRKCB1) の遺伝子多型

これら新たに同定した遺伝子多型を用いてcase-control研究ならびに家系内伝達不均衡テスト (TDT) にてPKC-b遺伝子のプロモーター領域のSNPが、腎症と関連するこ

とを報告した (Araki S et al. J Am Soc Nephrol, 2003)。さらに、これら断面研究で得られた結果を、長期前向き経過観察研究にて、リスクSNPを有する症例の腎症進展リスク、さらに腎機能 (GFR) に及ぼす影響を検討した。364名の持続的蛋白尿を呈さない2型糖尿病患者を平均6年間追跡調査した結果、リスクSNPを有する症例では、顕性蛋白尿発症リスクが約2倍高率であり、より早期に顕性腎症を発症することを明らかにした (図2)。また、年間平均GFR低下率がリスクSNPを有する症例において、有意に高値であり、腎機能低下促進に関与していることを見出した (ref.8)。

図3. リスク遺伝子多型と腎症進展との関連



R.R. = 2.1 (95% CI: 1.1-4.4)

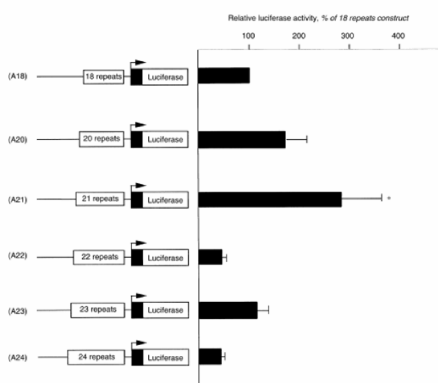
以上のcase-control研究、TDT、前向き経過観察研究のいずれの結果においても、PKC-b遺伝子のリスクSNPが腎症と関連を認めたことより、PKC-b遺伝子が腎症の感受性遺伝子であることを強く示していると考えられる。

2. 大規模関連研究

①MMP-9遺伝子

metalloproteinase-9 (MMP-9) 遺伝子のプロモーター領域に存在するCA繰り返し多型が、腎症と関連を認めるとともに、プロモーター活性に影響を及ぼすことを明らかにした (図4)。以上の結果より、MMP-9遺伝子プロモーター領域に存在するCA繰り返し多型は、遺伝子発現量変化を介して腎症の発症に関与していること可能性が示された (ref. 1)。

図4. MMP-9遺伝子CA繰り返し多型数別プロモーター活性

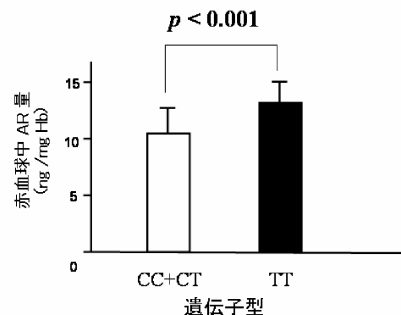


②Aldose reductase遺伝子

大規模関連研究の結果、アルドース還元酵素 (AR) 遺伝子のプロモーター領域に存在するC-106T遺伝子多型のTT遺伝子型頻度は、腎症群にて有意に高頻度であり、オッズ比4.7 (95%信頼区間: 1.3-17) であった。また、赤血球中アルドース還元酵素蛋白量は、TT遺伝子型保有者において他の遺伝子型保有者に比較し有意に高値であり

(図5)、腎症群において対照群に比し高値であった。さらに、新たなプロモーター領域の遺伝子多型を同定するため1.5kbを直接シーケンス法にて検討した。新たに同定したC-11G遺伝子多型頻度は、両群間に差を認めず、C-106T遺伝子多型とのハプロタイプ解析も両群間に差を認めなかった。

図5. C-106T遺伝子多型と赤血球中AR蛋白量



以上の結果より、AR遺伝子のC-106T遺伝子多型のTT遺伝子多型保有者は、AR蛋白量発現調節を介して腎症の発症・進展に関与している可能性が示唆された。(ref 2)。

③合併症発症予測SNPチップの開発

大阪大学・順天堂大学・滋賀医科大学の三大学共同研究として、約100個の糖尿病合併症複合遺伝子群のSNP情報に基づくSNPチップを作成した。現在、前向き経過観察研究に参加している症例を用いて、作成したSNPチップと合併症発症予測アルゴリズムの妥当性を検討している。

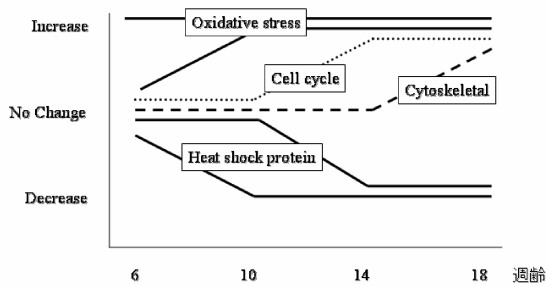
3. 合併症家系図の構築:

2000-2001年度に糖尿病長期前向き経過研究に参加された2型糖尿病患者823名を対象に、糖尿病に関する家系調査を実施した。その結果をもとに、両親が健在である523家系を対象に、両親ならびに同胞への糖尿病調査・DNA採取に関する協力を要請し、快諾いただいた108家系の患者家族の構成員の方々にアンケート調査を実施し、糖尿病ならびに血管合併症の家系図を構築した。さらに、49家系の家系構成員より、糖尿病調査・DNA採取に関する研究協力の承諾を得た。2004年度末 (研究期間終了) 現在、51名の家族の方々の糖尿病 (糖尿病治療中以外のすべての方に75 g OGT Tを実施) ならびに合併症に関する臨床検査データ・DNA採取をおこなった。本研究は、現在も継続中であり、かつ経年的データの蓄積も行っている。

4. 新たな合併症感受性候補遺伝子の探索

①DNAマイクロアレイ法を用いた遺伝子発現プロファイルの作成: 1.5、2.5、3.5、4.5月齢の2型糖尿病モデル動物であるdb/dbマウスとコントロールマウスであるdb/mマウスの腎組織よりmRNAを抽出し、DNAマイクロアレイ法を用いて遺伝子発現プロファイルを作成した。マイクロアレイ上の12,488遺伝子のうち、364遺伝子 (3%) に腎症の発症・進展に伴い発現量に変化が認められた。そこで、遺伝子発現パターンに基づき、腎症の発症・進展過程に発現量の増加・減少をきたす遺伝子群のクラスター分類をおこなった (図6)。

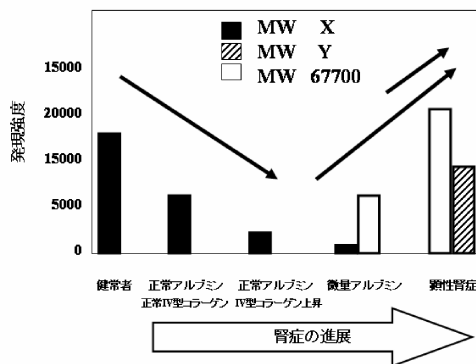
図6. 腎症発症に伴い発現量の変化する遺伝子クラスター分類



②早期腎症診断マーカーとしての新たな尿中標的物質の同定：

前向き経過観察研究に参加されている2型糖尿病患者を対象に、研究期間中に腎症が発症・進展を認めた症例と、逆に腎症の寛解が認められた症例の経年的に保存されている尿サンプルを、蛋白チップを用いて経年的蛋白発現プロファイルを作成した。その結果、腎症の進展に伴い尿中排泄量の減少する分子量67,700の蛋白と、腎症の進展に伴い増加する2つの蛋白が存在することが明らかとなった(図7)。現在、これら腎症進展に伴い尿中排泄量が増減する蛋白を同定するためMS/MS法を用いて検討を行っている。

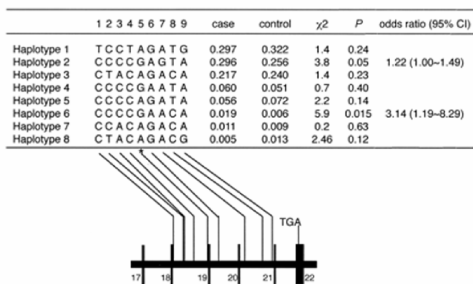
図7. 糖尿病性腎症の発症・進展に伴う尿中蛋白の蛋白発現プロファイル



③全ゲノム大規模SNP関連研究：

約8万SNPを用いた全ゲノムSNP関連解析の結果、engulfment and cell motility 1遺伝子(ELMO1)に存在するSNPと糖尿病性腎症との関連が認められた(図8)。

図8. ELMO1遺伝子ハプロタイプ解析



ELMO1蛋白は、糖尿病モデル動物の腎臓で発現が亢進していた。また、高糖濃度条件下培養細胞でその発現が亢進し、ELMO1過剰発現細胞では、細胞外基質蛋白の発現亢進を認めた。以上の結果より、ELMO1は、糖尿病性腎症の発症・進展に関与している可能性が示された(ref 4)。また、KLF7, TFAP2B遺伝子多型が2型糖尿病と関連

することを報告した(ref 6,7)。

<国内外での成果の位置づけ>

滋賀医科大学で実施している2型糖尿病患者を対象とした長期前向き経過観察研究は、2004年度末現在で9年を経過し、1100名を超える症例の糖尿病合併症に関する詳細な検査データ・DNA・血清・尿サンプルが一定の基準のもと経年的に蓄積され、現在も継続中である。その結果、正確な臨床診断に基づく合併症の経年的変化の詳細が蓄積されてきており、日本人2型糖尿病患者での血管合併症の発症・進展過程を明らかにすることが可能となっている(ref. 5)。さらに、本研究における合併症感受性候補遺伝子の検討では、従来より頻用されている大規模断面研究のみならず、経年変化を加味した前向き解析が可能となり、より信頼性の高い感受性候補遺伝子の解析が可能となっている(ref 3,6)。このように経年的データを蓄積し、前向きコホート研究として遺伝子解析を実施している研究施設は、国内外に数施設のみである。

また、分担研究者である前田博士が理化学研究所で実施している全ゲノム大規模SNP関連解析は、糖尿病血管合併症のみならず、糖尿病感受性遺伝子解析においても世界的に大きな成果を挙げている。以上の結果より、本研究においては、今後、このような網羅的ゲノム解析と前向きコホート研究を組み合わせることにより、より信頼性の高い遺伝子解析を行うことを可能とする基盤が整備されたと考える。

さらに、本研究課題で目指すゲノム疫学研究・網羅的ゲノム研究によるゲノム情報を統合した新たな糖尿病治療法開発への展開を講じることは、糖尿病血管合併症の予防に効率的なオーダーメイド医療の実現に大きく貢献するものと考えられる。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

家系調査研究に参加協力の同意が得られた49家系の構成員の糖尿病調査・DNA採取を継続的に行っているが、すべての家系構成員に完了できていない。特に、遠方に住まわれている方々の臨床検査・DNA採取が進んでいない。そのため、糖尿病合併症家系データベースに基づくtransmission disequilibrium test (TDT)による糖尿病候補遺伝子解析、同一家系内で合併症に対する罹患不一致同胞対(discordance sib-pair: DSP)を用いた連鎖解析、糖尿病合併症罹患不一致同胞対間での遺伝子発現プロファイルの作成を行う予定であったが、研究期間内に実施することが出来なかった。しかしながら、現在も家系調査研究は継続して実施しており、その基盤は整いつつある。

<今後の課題>

①これまでの、腎症を主として合併症感受性遺伝子について検討をおこなってきたが、前向き経過観察研究データの蓄積に伴い、大血管障害、神経障害など他の血管合併症に関する経年的検討が可能となってきている。今後、腎症以外の血管合併症に対する感受性候補遺伝子の関与についても検討を実施していく。

②腎症感受性候補遺伝子として、従来主として検討してきた腎症の進展に関与する遺伝子群の同定のみならず、適切な治療により改善の期待できる症例と治療の如何にかかわらず進行していく症例の予測を遺伝子多型の違いにより判別できるかを検討していく。

③全ゲノム大規模SNP関連研究で、腎症と関連が認められた遺伝子多型について、前向き経過観察研究参加症例

を対象に、腎症の発症・進展さらに腎機能に及ぼす影響を検討する。

②49家系すべての構成員の糖尿病ならびに合併症調査・DNA採取を完了させるとともに、家系構成員の方々の糖尿病発症ならびに合併症発症に関する経年的経過観察を実施し、最新の正確な臨床診断に基づいた家系図の構築をおこなっていく。

③糖尿病合併症罹患不一致同胞対間での遺伝子発現プロファイルを作成し、糖尿病モデル動物で得られた遺伝子発現プロファイルと比較することで、より可能性の高い感受性候補遺伝子を同定し、長期前向き経過観察研究により合併症との関連性を検証する。

④DNAマイクロアレイ法を用いた糖尿病モデル動物の腎での遺伝子発現プロファイルより作成した腎症の発症に伴い発現量の増加・減少をきたす遺伝子群を新たな腎症感受性候補遺伝子として検討を行っていく。

⑤糖尿病前向き経過観察研究では、治療薬の使用や副作用出現に関する経年的データの収集も行っている。そこで、より安全で有効な治療法の確立を目指し、治療薬剤に対するレスポナー・ノンレスポナーと副作用出現の有無を抽出し、このような事象と関連する薬剤反応性遺伝子の同定を行う。特に薬物動態（代謝・輸送）に関連する遺伝子群、標的臓器（肝臓・脂肪組織・筋肉）の分子作用機構や分化誘導機構に関連する遺伝子群、糖代謝に関連する遺伝子群と、一般的に薬物動態に影響を与えるチトクロームP450（CYP）分子種の遺伝子多型を解析対象とし、約300の一塩基多型（SNP）を用いて網羅的に大規模関連解析をおこない薬剤感受性候補遺伝子を探索・同定を目指す。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. 0111011352

Maeda S, Haneda M, Guo B, Koya D, Hayashi K, Sugimoto T, Isshiki K, Yasuda H, Kashiwagi A, Kikkawa R: Dinucleotide repeat polymorphism of matrix metalloproteinase-9 gene is associated with diabetic nephropathy. *Kidney Int* 60 (4) :1428-1434 (2001)

2. 404051928

Makiishi T, Araki S, Koya D, Maeda S, Kashiwagi A, Haneda M: C-106T polymorphism of AKR1B1 is associated with diabetic nephropathy and erythrocyte aldose reductase content in Japanese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Am J Kidney Dis* 42 (5) :943-951 (2003) .

3. 404070901

Araki S, Koya D, Makiishi T, Sugimoto T, Isono M, Kikkawa R, Kashiwagi A, Haneda M: APOE polymorphism and the progression of diabetic nephropathy in Japanese subjects with type 2 diabetes: results of a prospective observational follow-up study. *Diabetes Care* 26 (8) :2416-2420 (2003) .

4. 0602021007

Shimazaki A, Kawamura Y, Kanazawa A, Sekine A, Saito S, Tsunoda T, Koya D, Babazono T, Tanaka Y, Matsuda M, Kawai K, Iizumi T, Imanishi M, Shinosaki T, Yanagimoto T, Ikeda M, Omachi S, Kashiwagi A, Kaku K, Iwamoto Y, Kawamori R, Kikkawa R, Nakajima M, Nakamura Y, Maeda S: Genetic variations in the gene encoding ELMO1 are associated with susceptibility to diabetic nephropathy. *Diabetes* 54 (4) :1171-1178 (2005)

5. 0602021011

Araki S, Haneda M, Sugimoto T, Isono M, Isshiki K,

Kashiwagi A, Koya D: Factors associated with frequent remission of microalbuminuria in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 54 (10) :2983-2987 (2005)

6. 0601301615

Maeda S, Tsukada S, Kanazawa A, Sekine A, Tsunoda T, Koya D, Maegawa H, Kashiwagi A, Babazono T, Matsuda M, Tanaka Y, Fujioka T, Hirose H, Eguchi T, Ohno Y, Groves CJ, Hattersley AT, Hitman GA, Walker M, Kaku K, Iwamoto Y, Kawamori R, Kikkawa R, Kamatani N, McCarthy MI, Nakamura Y: Genetic variations in the gene encoding TFAP2B are associated with type 2 diabetes mellitus. *J Hum Genet* 50 (6) :283-292 (2005)

7. 0601301628

Kanazawa A, Kawamura Y, Sekine A, Iida A, Tsunoda T, Kashiwagi A, Tanaka Y, Babazono T, Matsuda M, Kawai K, Iizumi T, Fujioka T, Imanishi M, Kaku K, Iwamoto Y, Kawamori R, Kikkawa R, Nakamura Y, Maeda S: Single nucleotide polymorphisms in the gene encoding Kruppel-like factor 7 are associated with type 2 diabetes. *Diabetologia* 48 (7) :1315-1322 (2005)

8. in press

Araki S, Haneda M, Sugimoto T, Isono M, Isshiki K, Kashiwagi A, Koya D: Polymorphisms of the PKC_ gene (PRKCB1) accelerate kidney disease in type 2 diabetes mellitus without overt proteinuria. *Diabetes Care* (in press)