

2型糖尿病の遺伝子診断用候補遺伝子の網羅的解析及びその機能解析

●原島 秀吉¹⁾ ◆馬場 嘉信²⁾ ◆鈴木 要介³⁾ ◆紙谷 浩之¹⁾

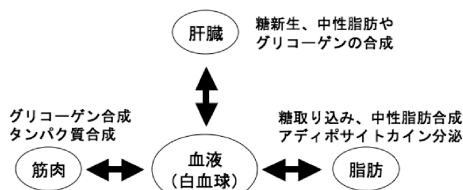
1) 北海道大学大学院薬学研究所 2) 名古屋大学大学院工学研究所 3) 株式会社ジェノファンクション

<研究の目的と進め方>

本申請研究は2型糖尿病発症前の遺伝子発現変化を白血球において検出し、将来的な発症リスクを予測する遺伝子診断システムの開発を目的としている。血液サンプルは採取が容易であるため、発症前遺伝子診断のツールとして有用である。

2型糖尿病の病態形成過程に白血球においてどのような遺伝子発現変動が誘起されるかは不明である。そこで発症前の2型糖尿病自然発症モデルラット (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rat) を用い、絶食、インスリン負荷時の白血球における遺伝子発現変動をcDNAマイクロアレイで網羅的に検出した。同様に糖尿病主要臓器である肝臓の遺伝子発現変動を検出し、両臓器の検出結果を比較することで、より病態変動を反映した発現変動を示す遺伝子群の抽出を試みた。

白血球と糖尿病主要臓器を用いた網羅的遺伝子発現解析



血液サンプルは検査試料として採取が容易
グルコーストランスポーター、インシュリンレセプターの発現病態を反映した糖尿病感受性遺伝子の発現変動が検出可能?

<研究開始時の研究計画>

- cDNAマイクロアレイによる2型糖尿病診断用候補遺伝子の網羅的探索
- siRNAによる候補遺伝子の機能解析

<研究期間の成果>

① 発症前診断用候補遺伝子のスクリーニングを行うために、マイクロアレイデータに階層的クラスタリングを適用した。2倍以上の有意な発現変動を示す遺伝子は、両臓器で合計1080遺伝子検出された。これらの遺伝子を白血球と肝臓における共通発現変動パターンからクラスタリングした結果、57遺伝子が診断用候補遺伝子として抽出された (Fig.1)。57遺伝子の中には既知の2型糖尿病感受性遺伝子が30遺伝子、またヒトで相同タンパク質の発現が確認されている遺伝子が43遺伝子含まれていた。このことは動物モデルを用いた解析結果がヒトへの拡張性を考える上で有用な情報をもたらすことを意味しており、将来的なヒトへの適用を支持する結果である。

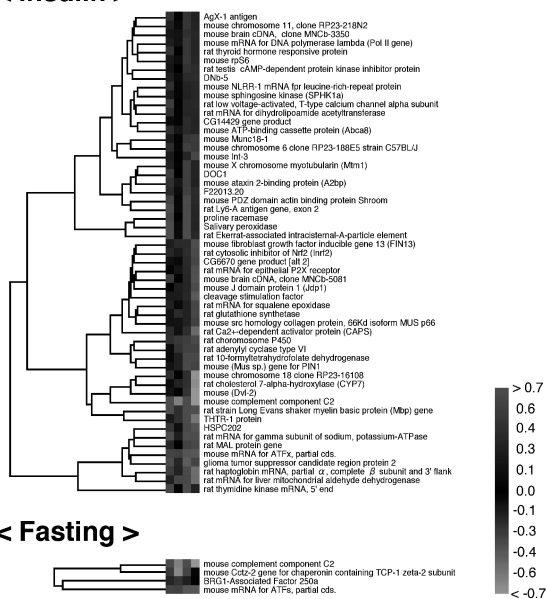
<国内外での成果の位置づけ>

血液サンプルを用いた糖尿病発症前遺伝子診断は今までにない着眼でありユニークなものである。国内の学会においても興味を持って取り上げられた (第48回日本糖尿病学会年次学術集会: 2005年5月12日-14日、神戸)。臨床的な観点からは特に発症後の遺伝子発現変動との比較検討に対する要望が強く寄せられた。

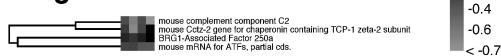
<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

診断用候補遺伝子として抽出された57遺伝子の発現パターンによるクラスタリングからは、発症と遺伝子機能との間に明確な規則性は見出せなかった。遺伝子発現解析の結果から生物学的に有用な結果を導くためには、膨大な発現データに対しいかに意味のある数理統計学的処理をするかが重要である。また発現解析データに対しハプロタイプ、ゲノム配列やプロテオームなど様々な情報を三次元的に統合することで、遺伝子の発症への寄与を総合的に判断できると考える。アレイデータに適用するアルゴリズムの開発も含め、トランスクリプトーム解析、疾患感受性同定のための手法は発展途上であり、今後はその進行と平行する形で各遺伝子の生物学的ネットワークを反映した解析が可能になると考える。

< Insulin >



< Fasting >



(Fig. 1)

<今後の課題>

今回の発現解析結果はあくまで病態モデルラット臓器での遺伝子発現変動の一側面を捉えたにすぎない。抽出された57遺伝子の発現変動が、糖尿病発症と直接あるいは間接的に関連性を持つかは不明である。各遺伝子機能の検証を行うために我々は研究計画に示す、②siRNAによる候補遺伝子の機能解析をin vivoで行うための準備を進めている。当教室で開発した組織選択的なin vivoデリバリーシステムであるmultifunctional envelope type nano device (MEND)に候補遺伝子に対するsiRNAを搭載し、標的臓器に送達することでin vivoにおいてダイレクトに候補遺伝子の病態への機能的関与を解析することが可能となる。遺伝子発現情報とin vivoノックダウンシステムの融合させることで、ヒトへの適用に向けた診断システムの構築を進めることが今後の課題である。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1) 論文

① Genome wide expression analysis of white blood cells and liver of pre-diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats using a cDNA microarray

S. Iida, Y. Sato, A. Nakaya, Y. Shinohara, A. Sawada, H. Nagata, N. Kaji, H. Kamiya, Y. Baba, H. Harashima (submitted for publication)

2) 特許

①特願 2004-073597：2型糖尿病の診断方法. 発明者：原島秀吉、馬場嘉信 他

②特願 2005-274751：2型糖尿病の診断方法. 発明者：原島秀吉、馬場嘉信 他