

糖尿病疾患関連遺伝子の同定と医療への応用

●春日 雅人¹⁾²⁾ ◆門脇 孝³⁾ ◆安田 和基¹⁾ ◆大澤 春彦⁴⁾ ◆南條 輝志男⁵⁾

1) 国立国際医療センター・研究所 2) 神戸大学・大学院医学研究科 3) 東京大学・大学院医学系研究科
4) 愛媛大学・大学院医学系研究科 5) 和歌山県立医科大学・医学部

<研究の目的と進め方>

我が国における糖尿病患者の急増は憂慮すべき問題であり、その遺伝素因を明らかにすることは糖尿病の発症予防や新しい治療法の開発に多大の貢献をする。国外において、2型糖尿病に対するゲノムワイド関連解析の報告が2007年2月より相次いでいる。いずれも全ゲノム上の30万~50万SNPをタイピングするプラットフォームを用いている。これまでに10報以上の報告があり、同定されてきている遺伝子数も20を超える。また国内を含めアジア人の2型糖尿病における同様の全ゲノム関連解析の報告は未だない。糖尿病関連遺伝子同定のために、ミレニアムゲノムプロジェクトでは、「糖尿病サブチーム」として、SNPならびにマイクロサテライトマーカー（MS）を用いた多段階的ゲノムワイド関連解析を行った。その成果を踏まえ、本計画研究においても継続的に分担研究者と密に連携しながら共同研究を推進し、今後は、多段階的ゲノムワイド関連解析で捉えられてきた候補領域について、役割を分担し、高密度SNP関連解析、遺伝子機能解析を用いて糖尿病感受性遺伝子を同定していくとともに、その成果の医療現場での活用を目指す。

<2008年度の研究の当初計画>

我々は、ミレニアムゲノムプロジェクトにおいて2型糖尿病患者・正常対照者それぞれ約1,600検体と10万箇所にあぶるSNPとを用いた、3段階スクリーニング関連解析を行い、2型糖尿病発症リスクと有意な関連を示す10SNP（7遺伝子）を見出した。これらの7遺伝子のうちカリウムチャンネルをコードするKCNQ1遺伝子に注目し、2007年度までに高密度SNP関連解析を終了させた。さらに、新たな2型糖尿病患者・正常対照者サンプル1000例ずつを収集し（確認パネル）、この遺伝子内で最も有意な関連を認めた3つのSNPについて解析を行ったところ、再現性をもって糖尿病リスクと関連することを明らかにした。2007年度までのこれらの成果を踏まえ、2008年度にはKCNQ1遺伝子について、(1)さらに別の日本人パネル（徳島大学板倉先生のグループ）、韓国人パネル・中国人パネル・白人パネルでKCNQ1遺伝子が糖尿病リスクと関連を示すかどうかについて共同研究を進めること(2)KCNQ1遺伝子の糖尿病発症における役割を明らかにするために、ノックアウトマウスや培養細胞を用いた分子生物学的解析を引き続き進めることを計画した。

平行して、(3)我々がつきとめた上記7遺伝子のうち、KCNQ1遺伝子以外の2型糖尿病関連遺伝子の候補領域について、確認パネルを用いた糖尿病関連についての追認解析を終了させ、そこで有意になったものについては、高密度SNP関連解析を検討すること(4)白人におけるゲノムワイド関連解析で2型糖尿病関連遺伝子とされる遺伝子などについて、従来の候補遺伝子アプローチを用いて日本人2型糖尿病リスクとの解析を進めていくことを計画した。

<2008年度の成果>

(1) KCNQ1 遺伝子について (図1)

スクリーニングの2次パネルと3次パネルの合計で最も有意な関連を示したSNP（rs2237892他、計3SNP）について、2つの日本人確認パネル、1つの中国人パネル、1つの韓国人パネル、1つの白人パネル、合計5つの集団において再現性をもって2型糖尿病の発症リスクとKCNQ1遺伝子が関連することを見出した。KCNQ1遺伝子はこれまでの白人2型糖尿病ゲノムワイド関連解析では同定されておらず、ミレニアムプロジェクトから継続してきた日本人多段階ゲノムワイド関連解析による成果として、KCNQ1遺伝子が複数民族に共通する糖尿病関連遺伝子であることを報告した（rs2237892メタ解析：P値=1.7×10⁻⁴²、オッズ比=1.40）[成果リスト1]。

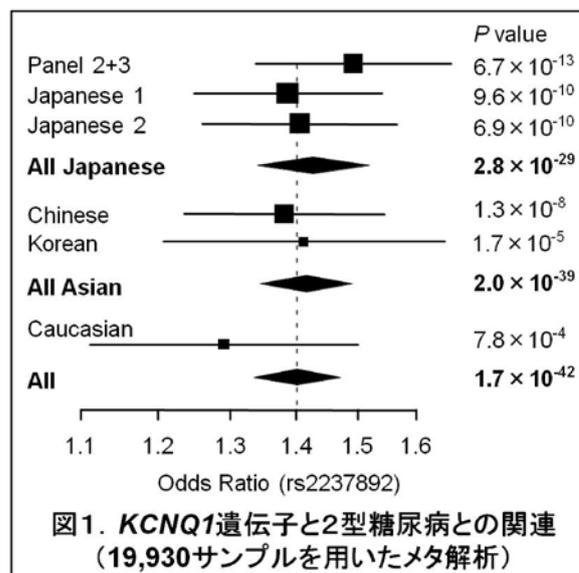


図1. KCNQ1遺伝子と2型糖尿病との関連 (19,930サンプルを用いたメタ解析)

KCNQ1蛋白の心筋における機能解析報告は多いが、膵臓における機能はよくわかっていない。そこで我々はKCNQ1がヒト/マウスの膵臓において発現していることを確認したうえで膵臓における機能解析を進めている。しかしながら、siRNAを用いてINS-1細胞でKCNQ1の発現量を減少させてもインスリン分泌の有意な変化は認められなかった。ノックアウトマウスの解析を進めているが、現在のところ耐糖能などの表現型に有意な差を認めない。

(2) 候補遺伝子解析

春日らは、白人2型糖尿病におけるゲノムワイド関連解析において感受性遺伝子として同定された10ヶ所の遺伝子領域、15のSNPについて日本人2型糖尿病1921例、正常コントロール1622例を用いた解析の結果、5つの遺伝子領域の白人リスクアレルが日本人においても2型糖尿病の発症リスクと関連すること

を見出した[成果リスト2]。また、*TCF7L2* 遺伝子が2型糖尿病と関連することが白人・アジア人など多くの人種・民族で示されているが、春日らは分担研究者の安田、南條、門脇、大澤との共同研究により、ミレニアムゲノムプロジェクト「糖尿病サブチーム」の4000人以上の日本人サンプルを用い、この遺伝子が日本人でも2型糖尿病と関連することを示した[成果リスト3]。南條らは、 β 1 アドレナリン受容体の多型を解析し、これらの多型は、少なくとも日本人において肥満と関連する可能性が低いことを報告した。安田らは、複数の民族で糖尿病遺伝子座として報告されていた、染色体1番長腕、3番長腕、12番長腕の領域について、SNPによる詳細なマッピングをおこない、新規の糖尿病候補遺伝子を得たことを報告。大澤らは、日本人の一般住民において、2型糖尿病リスクと関連を示す、PPAR γ 遺伝子 Pro12Ala Pro/Pro型とレジスチン遺伝子 SNP-420 G/G型が、相乗的に血中レジスチンと関連することを見出した。

上記成果(1)(2)において、東京大学・徳永勝士先生ならびに九州大学・山本健先生に、タイピングのご支援、千葉大学・羽田先生にゲノム試料収集のご支援をいただいている。

<国内外での成果の位置づけ>

我々が同定した糖尿病関連遺伝子 *KCNQ1* については、国内の別のグループからも、27万 SNP を用いたゲノムワイド関連解析により *KCNQ1* 遺伝子が日本人を含むアジア人、白人において2型糖尿病と関連を示したとの報告がなされた。用いたサンプルに重複がないことが確認されており、ほぼ同時期に、2つの日本人糖尿病ゲノムワイド関連解析研究において同じ遺伝子が同定されたことは非常に興味深い。また、白人においては30万~50万 SNP を用いたゲノムワイド関連解析の報告がすでに数報なされているが *KCNQ1* 遺伝子についての報告はない。これは、アジア人と白人におけるリスクアレルの頻度に差があることによると考えている。昨今の30万~50万 SNP パネルが、common な SNP を比較的網羅しているとはいえ、それでも拾いきれていない関連シグナル(特にアレル頻度の小さな多型)が存在すること、また、そのため、今後もアジア人を含む白人以外の民族でもゲノムワイド関連解析の推進が必要であることを改めて示した点において、本研究の意義は非常に大きい。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

KCNQ1 遺伝子の機能解析を進めているが、当初期待していたような明確な結果が現在のところでは得られていない。2型糖尿病のような疾患では、その関連遺伝子が病態(表現型)に及ぼす影響は小さいことが予想されているが、これまでの分子生物学的アプローチでは、うまくその差異を捉えられていないことが原因であると考えている。

<今後の課題>

KCNQ1 遺伝子の機能解析をさらに進め、糖尿病発症におけるこの遺伝子の役割を明らかにしたいと考えている。さらには、見出した多型の差異がどのような機序でこの遺伝子機能(あるいは隣接する他の遺伝子の可能性もある)に影響を及ぼしているのかについても解析を進めたい。

我々がつきとめた *KCNQ1* 遺伝子以外の2型糖尿病関連遺伝子の候補領域について、確認パネルを用いた糖尿病関連についての追認解析を今年度中に終了させる。また一方で、白人におけるゲノムワイド関連解析で明らかとなった2型糖尿病関連遺伝子の多くが、日本人においても2型糖尿病リスクと関連することを見出したが、白人同士のメタ解析などであらたな2型糖尿病関連遺伝子

が報告されてきている。これらの遺伝子についても日本人糖尿病との関連を確かめることが必要と考える。さらには、これまでに明らかとなった2型糖尿病関連遺伝子のリスクの積み重なりが、実際にどれほどの疾患発症リスクとなっているのかについても検討していきたい。

<成果公表リスト>

- 0811171544 [Yasuda K](#), Miyake K, Horikawa Y, Hara K, [Osawa H](#), Furuta H, Hirota Y, Mori H, Jonsson A, Sato Y, Yamagata K, Hinokio Y, Wang HY, Tanahashi T, Nakamura N, Oka Y, Iwasaki N, Iwamoto Y, Yamada Y, Seino Y, Maegawa H, Kashiwagi A, Takeda J, Maeda E, Shin HD, Cho YM, Park KS, Lee HK, Ng MC, Ma RC, So WY, Chan JC, Lyssenko V, Tuomi T, Nilsson P, Groop L, Kamatani N, Sekine A, Nakamura Y, Yamamoto K, Yoshida T, Tokunaga K, Itakura M, [Makino H](#), [Nanjo K](#), [Kadowaki T](#), [Kasuga M](#), Variants in *KCNQ1* are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nature Genetics*.40(9), 1092-1097, 2008
- 806121443 Horikawa Y, Miyake K, [Yasuda K](#), Enya M, Hirota Y, Yamagata K, Hinokio Y, Oka Y, Iwasaki N, Iwamoto Y, Yamada Y, Seino Y, Maegawa H, Kashiwagi A, Yamamoto K, Tokunaga K, Takeda J, [Kasuga M](#), Replication of genome-wide association studies of type 2 diabetes susceptibility in Japan. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(8), 3136-3141, 2008
- 801111028 Miyake K, Horikawa Y, Hara K, [Yasuda K](#), [Osawa H](#), Furuta H, Hirota Y, Yamagata K, Hinokio Y, Oka Y, Iwasaki N, Iwamoto Y, Yamada Y, Seino Y, Maegawa H, Kashiwagi A, Yamamoto K, Tokunaga K, Takeda J, [Makino H](#), [Nanjo K](#), [Kadowaki T](#), [Kasuga M](#), Association of *TCF7L2* polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes in 4,087 Japanese subjects. *J Hum Genet*. 53(2), 174-180, 2008
- 0806171842 Ohshiro, Y., Hayashi, M., Yabiku, K., Ueda, K., Wakasaki, H., Ishigame, M., Furuta, H., Nishi, M., Sasaki, H., Takasu, N., [Nanjo, K.](#), Mutations in the β 1 adrenergic receptor gene and massive obesity in Japanese. *Diabetes Res Clin Pract*, 80(2), 213-217, 2008
- 0801181719 Yamauchi, J., [Osawa, H.](#), Takasuka, T., Ochi, M., Murakami, A., Nishida, W., Takata, Y., Onuma, H., Tabara, Y., Miki, T., Ohashi, J., and [Makino, H.](#), Serum resistin is reduced by glucose and meal loading in healthy human subjects. *Metabolism* 57,149-156, 2008
- 0806202003 Takeuchi F, Ochiai Y, Serizawa M, Yanai K, Kuzuya N, Kajio H, Honjo S, Takeda N, Kaburagi Y, [Yasuda K](#), et al., Search for type 2 diabetes susceptibility genes on chromosome 1q, 3q and 12q. *J Hum Genet* 53(4), 314-324, 2008
- 0901101849 [Osawa, H.](#), Tabara, Y., Kawamoto, R., Ohashi, J., Ochi, M., Onuma, H., Nishida, W., Yamada, K., Nakura, J., Miki, T., Makino, H., and Kohara, K. The PPAR γ Pro12Ala Pro/Pro and resistin SNP-420 G/G genotypes are synergistically associated with plasma resistin in the Japanese general population. *Clin Endocrinol* (in press)
- 0901101854 Tabara, Y., [Osawa, H.](#), Kawamoto, R., Onuma, H., Shimizu, I., Miki, T., Kohara, K., and Makino, H. Replication study of candidate genes associated with type 2 diabetes based on genome-wide screening. *Diabetes* (in press)