

Title	個別化医療の実現を目指して : 2型糖尿病疾患感受性遺伝子の解明とその臨床応用
Author(s)	今村, 美菜子
Citation	琉球医学会誌 = Ryukyu Medical Journal, 36(1-2): 9-15
Issue Date	2017-12
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12001/23669
Rights	琉球医学会

個別化医療の実現を目指して 2型糖尿病疾患感受性遺伝子の解明とその臨床応用

今村 美菜子

琉球大学大学院医学研究科 先進ゲノム検査医学

(2016年8月29日受付, 2016年10月9日受理)

Elucidation of genetic susceptibility for type 2 diabetes and its clinical application

Minako Imamura

*Department of Advanced Genomic and Laboratory Medicine
Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus*

ABSTRACT

It has been well known that genetic susceptibility contributes to the risk for type 2 diabetes. Genome-wide association studies (GWAS) have facilitated a substantial and rapid rise in the number of confirmed susceptibility variants for type 2 diabetes. To date, more than 90 type 2 diabetes susceptibility loci have been identified through GWAS. Recently our Japanese study group conducted large-scaled GWAS meta-analysis in the Japanese populations and identified seven novel susceptibility loci for type 2 diabetes.

Although the impact of the each GWAS-derived susceptibility locus to the disease risk is modest, accumulation of genetic information in individuals is useful to define a high risk group for the disease in a population. Intensive life style intervention for individuals at genetically high risk may lead efficient prevention of type 2 diabetes in the community.

Because the current set of established susceptibility loci accounts for only 10% of genetic susceptibility for type 2 diabetes, more effort to search for the missing heritability would be necessary for translation of genetic information into clinical practice. Functional analysis to uncover the molecular mechanisms for type 2 diabetes susceptibility and integrated studies including genetic factor, environmental factor and interaction between genetic and environmental factors are the future challenges.
Ryukyu Med. J., 36 (1, 2) 9~16, 2017

Key words: type 2 diabetes, GWAS, genetic susceptibility, Clinical application

1. はじめに

過去の疫学研究の結果から2型糖尿病の成因には生活習慣などの環境要因とともに遺伝要因が関与することは以前から示されていたが、長い間2型糖尿病

の遺伝要因の解明は困難であった。2003年のヒトゲノム計画完了以降、次世代シーケンサーやSNP (single nucleotide polymorphism) チップなどの大量高速解析技術の開発およびゲノム情報データベースの整備が次々に行われたことによりゲノム医学研究分野は目覚ましく進歩した。2007年以降、複数の欧米グループ

からの2型糖尿病のゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study: GWAS) の報告を皮切りに全世界で精力的に GWAS による疾患感受性領域の同定が行われてきた。これまでに GWAS により 90 以上の 2 型糖尿病に関連する遺伝子領域が同定されている。本稿では 2 型糖尿病のゲノム研究の現状とその成果の臨床応用について、我々の研究グループからの報告を中心に概説する。

2. ゲノムワイド関連解析：GWAS

ヒトゲノムには、数百塩基対に一か所の割合で一塩基多型 (SNP) と呼ばれる個人差が存在する。殆どの SNP は 2 対立遺伝子 (bi-allelic) であることから大量高速解析に適しており、ゲノムワイドな疾患感受性遺伝子探索のためのマーカーとして有用である。これまでに国際ハップマッププロジェクトおよび 1000 人ゲノムプロジェクト (1000 genomes project: <http://www.1000genomes.org/>) などにより複数の人種にわたる SNP 情報の整備が行われてきた。1000 人ゲノムプロジェクトの最終フェーズでは世界中の 26 の異なる母集団に属する 2,500 人以上の遺伝子配列が決定され、挿入/欠失や構造多型などの SNP 以外の多型も含め合計 8,800 万以上の多型情報が搭載されている¹⁾。このうちの数十万~百万カ所程度の SNPs の遺伝型 (genotype) は SNP Chip を用いて直接一度に解析することができ、さらに現在ではデータベースに登録されているゲノム情報を基にした imputation と呼ばれる genotype 推定を加える事で各個人の数百万ヶ所の SNPs の genotype を決定する事が可能である。

GWAS とは疾患に罹患している集団と対照集団との間で各 SNP (数十~数百万ヶ所) の genotype 頻度の違いを統計学的に検定し、疾患の原因となる遺伝子領域を全ゲノム領域にわたって網羅的に検索する方法である。既知の疾患概念にとらわれず統計学的手法よってのみ行われるため、新規の疾患感受性遺伝子領域の同定に威力を発揮する反面、偽陽性が多く検出される可能性がある。そのため、GWAS で確実な感受性領域と認められるためには、①十分な症例数で検討すること、②ゲノムワイド水準の有意差 (p 値 $< 5 \times 10^{-8}$) をみとめること、③さらに他の独立した集団で再現できること、の 3 つの条件を満たすことが必要とされている^{2,3)}。

3. GWAS を用いた 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子の探索

過去の疫学研究の結果から 2 型糖尿病の成因には生活習慣などの環境要因とともに遺伝要因が関与するこ

とが示されていた。GWAS が精力的に行われる以前は候補遺伝子解析や連鎖解析による 2 型糖尿病疾患感受性領域の同定が試みられてきたが、再現性を有する結果を得ることが困難であった。2007 年に複数の欧米グループから 2 型糖尿病の GWAS の結果が相次いで報告され (GWAS 第 1 波)、その後は複数の GWAS データを統合すること (GWAS meta-analysis) で解析パワーを増し、よりオッズ比の小さい感受性遺伝子領域を同定する試みが精力的に行われてきた (GWAS 第 2 波)³⁾。特に初期の GWAS は欧米からの報告がほとんどであるが、欧米人集団では確実とされた疾患感受性領域でも欧米人以外の人種では疾患との関連を再現できない領域も存在することも明らかになってきた。GWAS 第 1 波の領域については日本人集団による検証解析では大旨再現性は良好であるが、第 2 波以降に同定された領域については日本人では 2 型糖尿病との関連が明らかでない領域も散見される³⁻⁶⁾。日本人集団を用いた GWAS により、2015 年までに *KCNQ1*, *UBE2E2*, *C2CD4A-C2CD4B*, *ANK1*, *MIR129-LEP*, *GPSM1* および *SLC16A13* の 7 つの 2 型糖尿病疾患感受性領域が同定された⁷⁻¹¹⁾。このうち *KCNQ1*, *UBE2E2*, *C2CD4A-C2CD4B*, *ANK1* は欧米人の大規模解析にても 2 型糖尿病との関連が再現されており¹²⁾, *SLC16A13* はメキシコ人集団を用いた解析にて同様の結果が確認されている¹³⁾。これらの結果が示唆するように、日本人集団を用いた GWAS においても複数の人種にわたって共通した疾患感受性遺伝子領域の同定が可能である。また、日本人に特有の疾患感受性機序を明らかにするためには日本人のゲノムを用いた解析が必要である。

近年、統計学的解析力を増す目的で大規模スタディが行われるようになり、欧米からはすでに 15 万人規模の 2 型糖尿病 GWAS の成果が報告されている¹²⁾。一方、これまでに行われた日本人の 2 型糖尿病 GWAS の解析規模は最大で約 2.5 万人であった¹¹⁾。そこで、我々の研究グループでは 2013 年に報告された GWAS¹¹⁾ に用いられた 25,066 人 (日本人; Case n=5,646, Control n=19,420) の GWAS データとバイオバンクジャパンに登録されているこれまでに解析に用いられていなかった 16,580 人 (日本人; Case n=9,817, Control n=6,763) の GWAS データを統合した GWAS meta-analysis を行った (計 41,646 人)⁶⁾。全ゲノムスクリーニングで得られた 17 の候補領域をさらに別の 13,475 人の日本人サンプルを用いて追加解析し、最終的にゲノムワイド水準である p 値 $< 5 \times 10^{-8}$ をクリアする新規の 7 領域 (*CCDC85A*, *FAM60A*, *DMRTA1*, *ASB3*, *ATP8B2*, *MIR4686*, *INAFM2*) を同定した⁶⁾ (Fig. 1)。これらの新しく同定した 7 領域と 2 型糖尿病の関連を海外のサンプルを用いて検証したところ、7 領域のうち *FAM60A*,

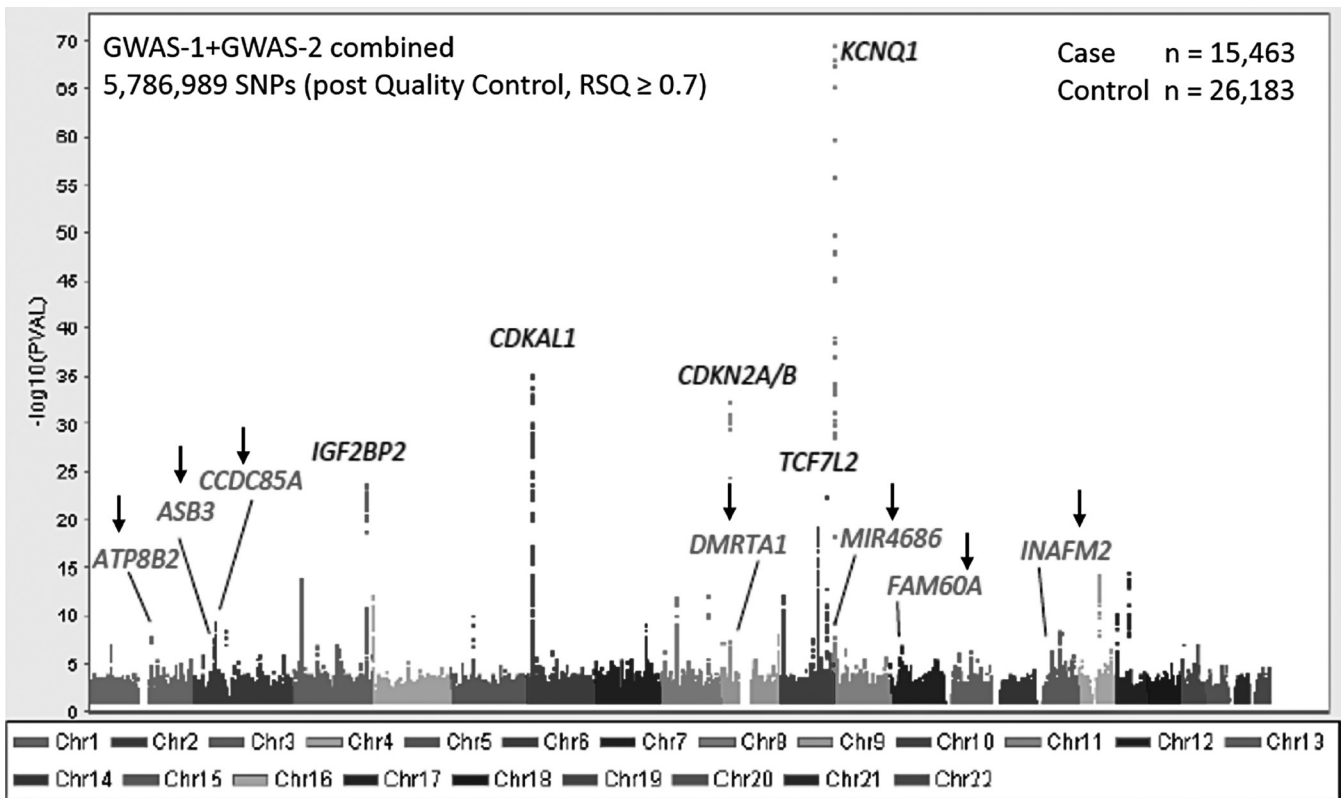


Fig. 1 大規模日本人 GWAS により同定された 7 つの新規 2 型糖尿病疾患関連遺伝子領域

それぞれのプロットは各 SNPs の関連解析の結果を示す。グラフの X 軸は Chromosome 上の位置、Y 軸は関連解析における p 値を対数変換した絶対値を示す。また、代表的な既報の疾患感受性遺伝子領域名と新規の 7 領域名 (矢印) が示されている。文献 6)

DMRTA1, *MIR4686*, *INAFM2* の 4 領域は日本人以外の集団においても統計学的に有意な関連を示し、*ATP8B2* も有意ではないが同様な関連が示唆された⁶⁾。一方、*CCDC85A* と *ASB3* の 2 領域は日本人以外の集団では関連が再現できず、これらの 2 領域は日本人特有の疾患感受性領域である可能性が考えられる。

4. GWAS の成果を応用した 2 型糖尿病 新規治療法開発

GWAS は統計学的手法により疾患と関連する遺伝子領域を同定する解析法であり既知の分子メカニズムによる生物学的仮説に基づかないため、GWAS で新たに同定された領域の疾患感受性の分子機序の解明は新規治療法の開発への糸口となりうる。しかしながら、これまでに GWAS で同定された疾患感受性領域における 2 型糖尿病発症進展の詳細な分子メカニズムの多くはまだ明らかになっていないのが現状である。そこで、我々の研究グループでは、これまでに国内外の GWAS によって得られた疾患感受性領域の情報と様々な生物学的データベースおよび創薬データベースに登録されている情報を systematic に照合すること

により新たな 2 型糖尿病治療のターゲットを探索する試みを行った⁶⁾。

これまでに GWAS で同定された 90 ヶ所の疾患感受性領域内に含まれる 286 の遺伝子について、複数の生物学的データベースからの情報を照合することにより、疾患感受性に関わる遺伝子の候補を 40 遺伝子に絞りこんだ。さらにこの 40 個の遺伝子と創薬データベースに収載されている薬剤ターゲット遺伝子の情報を照合した (Fig. 2)。

その結果、40 遺伝子のうち、*PPARG*, *KCNJ11*, *ABCC8*, *GSK3* および *KIF11* が既知の薬剤ターゲット遺伝子であることがわかった (Fig. 3)。さらに、これら 40 の遺伝子と蛋白質間相互作用を持つ関係にある遺伝子にも検索を広げたところ、複数の 2 型糖尿病リスク遺伝子と相互作用を持つ *GSK3B* および *JUN* が抽出された (Fig. 3)。これらのうち *PPARG*, *KCNJ11* および *ABCC8* は現在広く使用されている代表的な経口糖尿病薬のターゲット遺伝子であり、*GSK3* は臨床試験中の糖尿病薬のターゲット遺伝子であった。一方、*KIF11*, *GSK3B* および *JUN* は現在臨床試験中の癌あるいは慢性関節リウマチの治療薬のターゲット遺伝子であった。この一連の解析により確立された 2 型

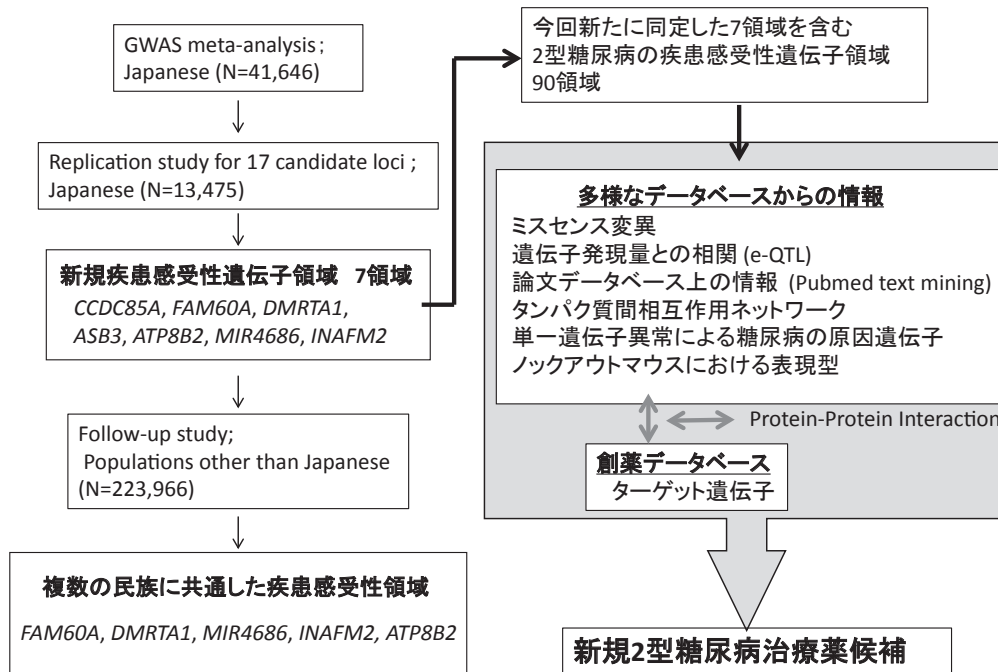


Fig. 2 GWAS の成果を用いた新規 2 型糖尿病治療標的検索の概要

図の左側は 2016 年にわれわれが報告した GWAS の概要を示している。日本人約 4 万人の全ゲノムにわたる網羅的解析により 7 つの 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子領域を同定した。さらに海外のサンプル約 22 万人のゲノム解析を行った結果、7 つのうちの 5 つの領域は民族を超えて疾患に関与することを明らかにした。また、右側に示すように、今回同定した 7 つの領域を含めた 2 型糖尿病発症に関連する 90 領域内の遺伝子について多様な生物学データベースの網羅的解析および創薬データベースとの照合を行うことにより、新しい 2 型糖尿病治療薬候補を検索した。文献 6)

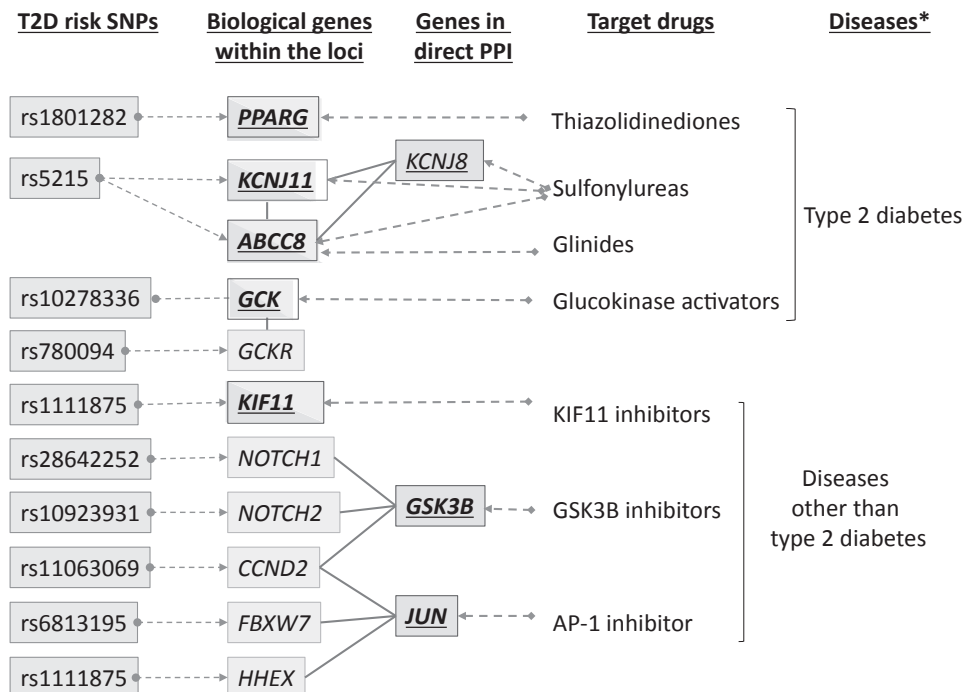


Fig. 3 疾患感受性領域の情報を元に同定した 2 型糖尿病の治療標的候補

今回新たに同定した 7 領域と既知の 83 領域について多様な生物学的データベースおよび創薬データベース上の情報を照合し、新たな 2 型糖尿病治療薬のターゲットとなりうる遺伝子を探索した。図はその代表的な結果であり、左から GWAS で同定された 2 型糖尿病関連遺伝子多型 (T2D risk SNPs)、2 型糖尿病疾患感受性遺伝子領域内の遺伝子 (Biological genes within the loci)、創薬データベースより得られた薬剤ターゲット遺伝子 (遺伝子名に下線) の関係を示している。* 創薬データベースに搭載されている薬剤の適応疾患を示す。文献 6)

糖尿病の治療薬を同定できたことから、この手法は新規の2型糖尿病治療薬の開発にも有用であると期待でき、*KIF11*、*GSK3B* および *JUN* を標的とする薬剤は新規2型糖尿病治療薬の候補と考えられた。これらの *in silico* 解析系により同定された治療薬候補の2型糖尿病に対する治療効果については、今後の糖尿病モデル動物などを用いた *in vivo* 解析での検証が必要である。

5. 疾患感受性遺伝子領域の情報を用いた個人の疾患リスク予測

これまでに GWAS で同定された2型糖尿病疾患感受性領域では、1つのリスクアレルあたりのオッズ比は1.1~1.4程度であり、個々の領域単独による疾患感受性への寄与度は小さい。しかし、複数の異なる領域のリスクアレルが集積した個人においては疾患へのリスクはより顕著になる。Fig. 4は2011年までにGWASで同定された2型糖尿病疾患感受性領域(49領域)の情報の日本人集団での有用性を検証した結果を示している¹⁴⁾。解析に用いた4,399人(Case n=2,613 および Control n=1,786)においては個人がもつ49領域のリスクアレルの総和(遺伝的リスクスコア:GRS)の分布は37から69であり、2型糖尿病患者で53.6±4.1 (mean±S.D.)、コントロール集団で51.8±4.1 (2型糖尿病 vs コントロール; p<0.001)と2型糖尿病患者において有意なリスクアレルの集積を認めた¹⁴⁾ (Fig. 4A)。また、Fig. 4Bに示すように、最も多くの対立遺伝子を持つ群 (GRS ≥ 60, 全体の5.7%)は最も少ない群 (GRS<46, 全体の4.2%)に

比べて9倍以上の2型糖尿病罹患リスクを保有していた。次に、Receiver Operating Characteristic (ROC) 解析を用いてこれらのリスクアレルの情報を用いた個人の疾患予測の精度を評価した (Fig. 5)。まず、各個人の遺伝情報 (GRS) のみを用いた予測では、ROC曲線の曲線下面積 (AUC) は0.624であり、年齢、性別、body mass index (BMI) という臨床情報による予測精度 (AUC=0.743)の方が優れていた。しかし、臨床情報に遺伝情報 (GRS) の情報を加えることによりわずかであるが、予測精度は有意に改善した (AUC=0.773, p=7.99×10⁻¹⁵)¹⁴⁾。

このように、現在解明されている遺伝情報のみでは各個人の将来の2型糖尿病発症リスクを正確に予測することは難しい。その理由の一つとして、GWASにより多くの疾患感受性領域が同定されていてもなお、遺伝要因の大部分が未解明である (missing heritability) ことが挙げられる^{2, 3, 12)}。また、将来の疾患発症リスクの予測モデル構築のためには、遺伝要因だけではなく生活習慣などの環境要因、および遺伝要因と環境要因の相互作用を含めた総合的な解析が今後は必要であると考えられる。

個人レベルでの疾患予測は未だ困難であるが、疾患予防対策における個人の遺伝情報の集団レベルでの有用性は期待されている。米国のコホート研究 (Diabetes Prevention Program) より、*TCF7L2* 遺伝子多型の危険遺伝型 (TT) を保有すると CC 型に比べて耐糖能異常から糖尿病へ移行するリスクが1.55倍となるが、生活習慣の介入により *TCF7L2* 遺伝子多型による糖尿病発症リスクの差が消失したことが示されている¹⁵⁾。

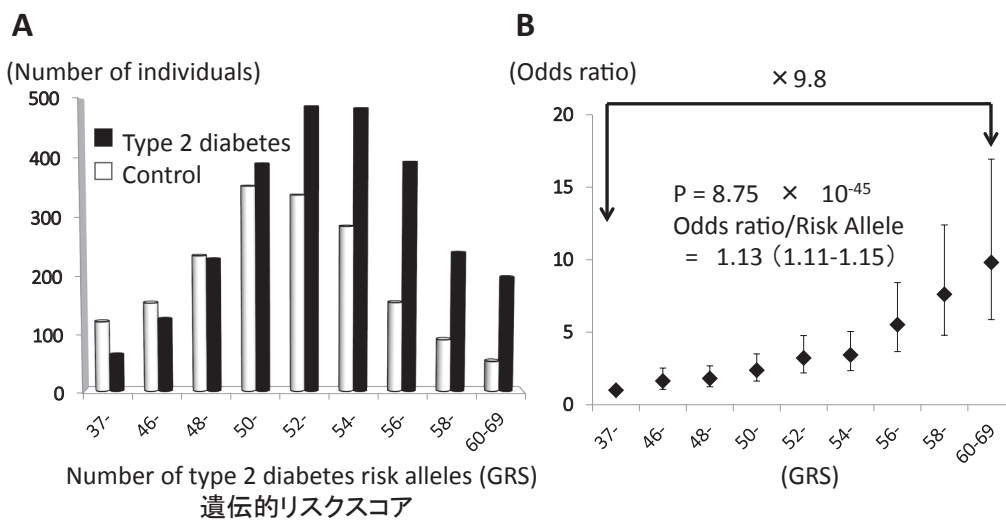


Fig. 4 49の疾患感受性領域の情報を用いた遺伝的リスクスコア (GRS) と2型糖尿病のリスク
 A. 2型糖尿病患者群 (n=2,613) および対照群 (n=1,786) のGRSの分布
 B. GRSと2型糖尿病リスクとの関係 X軸はGRSスコア、Y軸はリスクアレル保有数が最も少ない群 (37 ≤ GRS<46) と比較した各群の2型糖尿病保有リスクをオッズ比で示している。文献14)

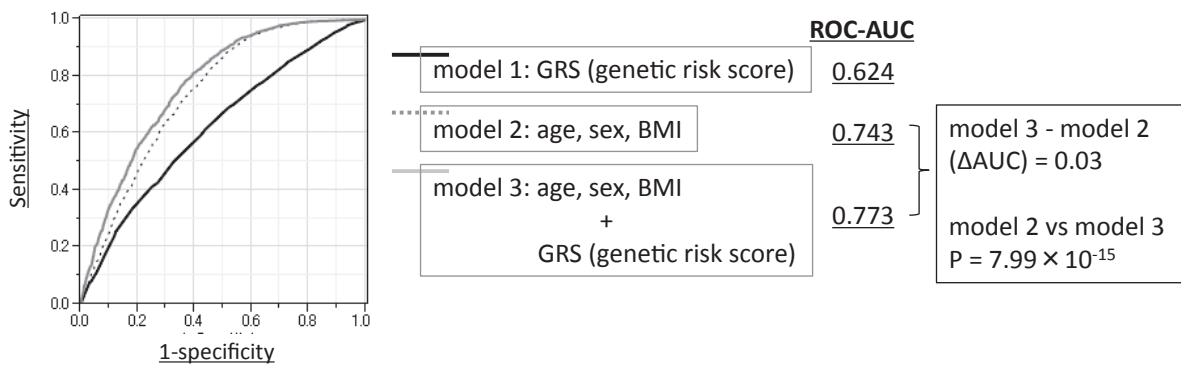


Fig. 5 遺伝的リスクコア (GRS) を用いた 2 型糖尿病リスク予測モデルの ROC 解析

model1: 予測モデルに GRS のみ, model2: 予測モデルに臨床情報 (年齢、性別、BMI) のみ、model3: 予測モデルに GRS と臨床情報を使用した。文献 14)

Figure 4 に示すように、現在明らかにされている遺伝情報でも集団の中から遺伝的ハイリスク群を抽出することは可能であることから、今後の前向き研究による検証が必要ではあるが、これらのハイリスク群に対して積極的に生活習慣の介入を行うことによる集団レベルでの効率的な発症予防システムの構築が期待できる。

6. おわりに

GWAS による 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子解明の現状およびその臨床応用の可能性について我々の研究グループからの成果を中心に概説した。これまでの国内外の研究から多くの 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子領域が報告されてきた。しかしながら、これらすべての遺伝情報を総合しても 2 型糖尿病の遺伝要因の一部しか説明できないと試算されており、また、疾患感受性遺伝子領域の機能的役割あるいは環境因子との相互作用の解明など、多くの課題が残されている。2 型糖尿病の病態解明とその先にある新規予防法治療法の開発のためにはこれらの課題克服は急務と考えられる。一方で、遺伝的背景は人種、地域により異なっており、特に島嶼県である沖縄県では独特の遺伝背景がありメタボリック症候群をはじめとした生活習慣病の罹患率も高いことも示されている。沖縄県における個別化医療促進のためには沖縄県民および沖縄各地の住民それぞれの遺伝要因と環境要因における特徴を明らかにする必要がある。今後は沖縄県における、大規模な遺伝因子、環境因子の統合解析を行うことで沖縄県民の健康長寿復活に貢献したい。

参考文献

- 1) The 1000 Genomes Project Consortium: A global reference for human genetic variation. *Nature* 526, 68-74, 2015
- 2) McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR, Goldstein DB, Little J, Ioannidis JP, Hirschhorn JN : Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nat Rev Genet* 9, 356-69, 2008.
- 3) Imamura M, Maeda S: Genetics of type 2 diabetes: The GWAS era and future perspectives *Endocr J* 58 723-739, 2011
- 4) Imamura M, Iwata M, Maegawa H, Watada H, Hirose H, Tanaka Y, Tobe K, Kaku K, Kashiwagi A, Kawamori R, Nakamura Y, Maeda S: Genetic variants at *CDC123/CAMK1D* and *SPRY2* are associated with susceptibility to type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetologia* 54 3071-3077, 2011
- 5) Imamura M, Iwata M, Maegawa H, Watada H, Hirose H, Tanaka Y, Tobe K, Kaku K, Kashiwagi A, Kadowaki T, Kawamori R, Maeda S: Replication study for the association of rs391300 in *SRR* and rs17584499 in *PTPRD* with susceptibility to type 2 diabetes in a Japanese population. *J Diabetes Investig* 4,168-173,2013.
- 6) Imamura M, Takahashi A, Yamauchi T *et al*: Genome-wide association studies in the Japanese population identify seven novel loci for type 2 diabetes. *Nat Commun* 7,10531,2016
- 7) Unoki H, Takahashi A, Kawaguchi T *et al*: SNPs in *KCNQ1* are associated with susceptibility to type 2 diabetes in East Asian and European populations. *Nat Genet* 40, 1098-1102,2008
- 8) Yasuda K, Miyake K, Horikawa Y *et al*: Variants in *KCNQ1* are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* 40,1092-

1097,2008

- 9) Yamauchi T, Hara K, Maeda S *et al*: A genome-wide association study in the Japanese population identifies susceptibility loci for type 2 diabetes at *UBE2E2* and *C2CD4A-C2CD4B*. *Nat Genet* 42,864-868,2010
- 10) Imamura M, Maeda S, Yamauchi T *et al*: A single-nucleotide polymorphism in *ANK1* is associated with susceptibility to type 2 diabetes in Japanese populations. *Hum Mol Genet* 21,3042-3049,2012
- 11) Hara K, Fujita H, Johnson TA *et al*: Genome-wide association study identifies three novel loci for type 2 diabetes. *Hum Mol Genet* 23,239-246,2014
- 12) Morris AP, Voight BF, Teslovich TM *et al*: Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. *Nat Genet* 44, 981-990,2012.
- 13) SIGMA Type 2 Diabetes Consortium: Sequence variants in *SLC16A11* are a common risk factor for type 2 diabetes in Mexico. *Nature*, 506,97-101,2014.
- 14) Imamura M, Shigemizu D, Tsunoda T *et al*: Assessing the clinical utility of a genetic risk score constructed using 49 susceptibility alleles for type 2 diabetes in a Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 98,E1667-1673,2013
- 15) Florez JC, Jablonski KA, Bayley N *et al*: *TCF7L2* polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N Engl J Med* 355,241-250,2006