

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 13 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22510214

研究課題名（和文）ゲノム解析情報に基づいた糖尿病発症機序の解明

研究課題名（英文）Searching for the causative genes and susceptibility SNPs for diabetes mellitus based on the linkage analysis data

研究代表者

岩崎 直子 (IWASAKI NAOKO)

東京女子医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70203370

研究成果の概要（和文）：

2型糖尿病の感受性遺伝子については、既に21番染色体上にKCNJ15とLSSの2種類の遺伝子を同定し、両遺伝子の機能解析を細胞レベル、動物レベルで評価した。さらに糖尿病モデル動物にsiRNAを投与によってこれらの遺伝子の発現を抑制すると血糖が改善することを明らかにし、糖尿病治療創薬ターゲットとなる可能性を明らかにした。MODYの原因遺伝子に関しては31名からなるMODY-X 家系の原因遺伝子解析を次世代シーケンサーを用いて行い、最終的に2つの遺伝子まで候補を絞ることができた。

研究成果の概要（英文）：

For type 2 diabetes susceptibility genes, we have identified two genes, *LSS* and *KCNJ15* on chromosome 21, under the peak of LOD curve we had reported. We showed that glucose levels were improved by suppressing the expression of each gene by administration of siRNA in diabetic animal, indicating that *LSS* and *KCNJ15* could be the therapeutic targets for type 2 diabetes. We also found two causative genes by using next generation sequencers in a large MODY family.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：ゲノム医科学

科研費の分科・細目：ゲノム科学・ゲノム医科学

キーワード：2型糖尿病、MODY、創薬、次世代シーケンサー、iPS、β細胞、ミトコンドリア、SNP

1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者数は戦後 35 倍に増加している。糖尿病は脳および心血管合併症のリスクを増加させ、平均余命は非糖尿病患者と比較し

て約 10 年短命であることが報告されている。糖尿病は遺伝素因のある個体に発症するので、糖尿病発症に関連する遺伝子を見出すこと、あるいは遺伝性糖尿病の原因遺伝子を同

定することにより、創薬や疾患管理に応用する事は喫緊の課題である。遺伝学的見地から、糖尿病の大多数を占める2型糖尿病と1種類の遺伝子によって発症する MODY に分けて検討を進める必要がある。

我々は既に染色体 21 番領域に 2 型糖尿病感受性遺伝子が存在する可能性を報告した。この領域には既報の遺伝子が存在しないため新規の遺伝子が見いだされると期待され、その後この領域から 2 種類の遺伝子 KCNJ15 (potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 15) 遺伝子と LSS (lanosterol synthase) 遺伝子見出していた。

2. 研究の目的

① 21 番染色体上の新規 2 型糖尿病感受性遺伝子である KCNJ15 遺伝子、LSS 遺伝子の機能を明らかにする事。

② 若年発症糖尿病優性遺伝家系 (MODY) の原因遺伝子を見出すこと。

③ MODY 患者由来 iPS 細胞から分化させた β 細胞を用いて、ミトコンドリア膜機能測定により評価し、糖尿病治療薬校歌判定におけるモデル系を作成する事。

3. 研究の方法

① については、KCNJ15 遺伝子の原因 SNP アレルの違いによる遺伝子ならびに蛋白発現への影響、インスリン分泌に及ぼす効果を細胞レベルで評価する。次に、個体レベルでの評価を目的としてマウスを用いて原因遺伝子の効果を評価する。さらに、糖尿病モデル動物を用いて、siRNA により本遺伝子を抑制し、どの様な効果がみられるかを観察する。もう一つの遺伝子である LSS 遺伝子についても同様に検討を進める。

② については共同研究を実施している国立国際医療センター研究部 (大河内仁志部長) において、本学で診断された MODY1 患者 1 名、MODY3 患者 2 名および MODY5 患者 1 名の皮膚細胞から iPS 細胞を樹立し、 β 細胞に誘導する。得られた MODY 患者由来 β 細胞のミトコンドリア膜機能を我々が開発したシステムを用いて評価することにより、転写因子異常による MODY の発症機構を検討する。

③ については既に 31 名からなる MODY 家系の原因遺伝子座位を報告している。次世代シーケンサーの解析結果と併せて、最終的に原因遺伝子を同定する。

4. 研究成果

① KCNJ15 遺伝子がヒト β 細胞に発現し、2 型糖尿病と関連することを明らかにし、報告した (論文 7, 2010 年) (学会発表 8, 16)。さらに本遺伝子が明確に糖代謝調節に与かっており、その発現を抑制することにより、

細胞レベル並びに個体レベルでインスリン分泌を改善させる事を見出し、最終的に糖尿病モデル動物でインスリン分泌を回復させて血糖を硬化させる作用のあることを示した (論文 12, 2012 年)。

LSS 遺伝子に関しては SNP2075906 において日本人で 2 型糖尿病と関連することを確認し、さらに韓国人、デンマーク人、イギリス人を加えたメタ解析においても 5×10^{-8} と全ゲノムの有意性を持って関連することを認めた。SNP2075906 は LSS 遺伝子の発現と関連するだけでなく、コレステロール合成に影響することを確認した。本遺伝子の発現の抑制によってモデル動物の血糖低下作用が認められ、論文を投稿した。現在査読者に対する回答を送付したところである。 (論文 1, 2013 年) (学会 9)

② 2011 年には MODY3 患者由来の iPS 細胞が樹立でき、 β 細胞にまで分化できた。我々は β 細胞のミトコンドリア膜機能を細胞が生きた状態で測定する系を確立し、報告した (論文 3, 2012 年) (学会発表 5, 10, 13)。しかしながら細胞数が十分でないため、ミトコンドリア膜機能を測定するうには至っていない。

③ MODY 家系構成メンバー 31 名の中から、発端者、その娘、いとこ、がいずれも MODY であるので、この 3 名と比較対照として発端者の配偶者で非糖尿病患者 1 名の計 4 名について whole exome sequence を行った。Sequence 情報ほぼ基準を満たし、その後絞り込みのために解析を行った。最終的に 2 つの遺伝子まで絞り込むことができた。これらの成果を学会で発表した。 (学会発表 2, 3, 4)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

1) Okamoto K, Honda K, Iwasaki N*, Tokunaga K et al. (41 名中 37 名略, corresponding author) Lanosterol synthase predisposes to type 2 diabetes mellitus and insulin resistance. *Hum Mol Genet* (in revising) (査読有)

2) Ogata M, Awaji T, Iwasaki N, et al. (9 名中 6 名略)

Localization of hepatocyte nuclear

- factor-4a in the nucleolus and nucleus is regulated by its C-terminus. *J Diabet Invest* 3:449-456, 2012 (査読有)
- 3) Ogata M, Awaji T, Iwasaki N et al, (8名中5名略)
A new mitochondrial pH biosensor for quantitative assessment of pancreatic β -cell function. *Biochemical and Biophysical Res Comm* 421:20-26, 2012 (査読有)
- 4) Takizawa M, Iwasaki N, Toshiyuki Y, Iwamoto Y, Uchigata Y.
Whole gene deletion mutation of HNF1B and exonic aberration of GCK and HNF1B in patients with MODY in Japan
Diabetol Int 3:224-232, 2012 (査読有)
- 5) Okamoto K, Iwasaki N, Noiri E, Doi K, Iwamoto Y, Fujita T, Tokunaga K.
Inhibition of Glucose stimulated insulin secretion by KCNJ15, a newly identified susceptibility gene for type 2 diabetes mellitus. *Diabetes* 61:1734-1741, 2012 (査読有)
- 6) Chen L, Takizawa M, Chen E, Iwasaki N, and Giacomini KM. (12名中7名略)
Genetic Polymorphisms in the Organic Cation Transporter 1, OCT1, in Chinese and Japanese Populations, Exhibit Altered Function. *J Pharmacol Exp Therap* 335(1):42-50, 2010 (査読有)
- 7) Okamoto K, Iwasaki N, (25人中23人略) Tokunaga K.
Identification of KCNJ15 as a susceptibility gene in Asian patients with type 2 diabetes mellitus.
Am J Hum Genet 86:54-64, 2010 (査読有)
- [学会発表] (計17件)
- 1) Iwasaki N, Takizawa M, Iwamoto Y, Uchigata Y. Application of MODY probability calculator for Japanese patients with MODY. 73th scientific session of American Diabetes Assoc. June 22, 2013 Chicago
- 2) Iwasaki N, Saito A, et al. (7名中5名略)
Identification of MODY-X gene in Japanese by combination of whole exome sequencing with linkage analysis. 9th International Diabetes Federation Western Pacific Region Congress 2012/11/24-27, 2012, Kyoto
- 3) Iwasaki N, Saito A, (7名中5名略)
Whole exome sequence identifies CUL9 as a MODY-X gene.
48rd Annual Meeting of EADSD (European Association for Study of Diabetes) 2012/10/1-5, Berlin, Germany
- 4) 岩崎直子, 齋藤 聡、他 (11名中9名略)
次世代シーケンサーを用いた新規 MODY 遺伝子の解析
第55回日本糖尿病学会総会
2012年5月17-19日 横浜
- 5) 尾形真規子, 岩崎直子, 他 (5名中3名略)
MODY1、MIDD モデル培養 β 細胞においてリラグルチドはミトコンドリア機能を回復させる。
第55回日本糖尿病学会総会
2012年5月17-19日 横浜
- 6) 藤巻理沙、滝沢美保、岩崎直子, 他 (16名中13名略)
MODY5 診断における表現型の有用性と遺伝子型の関連について
第55回日本糖尿病学会総会
2012年5月17-19日 横浜

- 7) 岩崎直子、滝澤美保、藤巻理沙、中村新子、尾形真規子、富岡光枝、岩本安彦
 MODY および若年発症糖尿病を対象としたインスリン遺伝子変異の検索
 第56回日本人類遺伝学会
 2011年11月11日 千葉
- 8) Iwasaki N
 Identification of KCNJ15 as a susceptibility gene in Asian patients with Type 2 diabetes Mellitus.
 16th Japan-Korea Symposium on Diabetes Mellitus
 2011年10月21-22日 Tokyo
- 9) Iwasaki N, Okamoto K, et al. (11名中9名略)
 Common variation in lanosterol synthase gene predispose to type 2 diabetes.
 47rd Annual Meeting of EADSD (European Association for Study of Diabetes)
 2011/09/12-16, Lisbon, Portugal
- 10) Ogata M, Iwasaki N, et al. (5名中3名略)
 KATP channel and mitochondrial pH: Estimation of mitochondrial matrix pH in cultured living β cells using an improved ratiometric biosensor.
 47rd Annual Meeting of EADSD (European Association for Study of Diabetes)
 2011/09/12-16, Lisbon, Portugal
- 11) 岩崎直子、滝澤美保、藤巻理沙、中村新子、尾形真規子、富岡光枝、岩本安彦
 MODY および若年発症糖尿病を対象としたインスリン遺伝子変異の検索
 第54回日本糖尿病学会総会
 2011年5月19-21日 札幌
- 12) 滝澤美保、岩崎直子、藤巻理沙、尾形真規子、富岡光枝、岩本安彦
 ミトコンドリア遺伝子異常に伴う糖尿病の予後.
 第54回日本糖尿病学会総会
 2011年5月19-21日 札幌
- 13) 尾形真規子、岩崎直子、他 (7名中5名略)
 膵 β 細胞ミトコンドリア pH は電子伝達系コンプレックスの活性バランスによって決定される
 第54回日本糖尿病学会総会
 2011年5月19-21日 札幌
- 14) 藤巻理沙、岩崎直子、他 (6名中4名略)
 内臓脂肪蓄積のある糖尿病合併脂質異常症におけるコレステラミドの有効性(第2報)
 第54回日本糖尿病学会総会
 2011年5月19-21日 札幌
- 15) Iwasaki N, Takizawa M, Fujimaki R, Ogata M, Saito K, Iwamoto Y.
 Genetic counseling for MODY, MIDD and other type of diabetes mellitus.
 46rd Annual Meeting of EASD (European Association for Study of Diabetes)
 2010/09/21-25, Stockholm, Sweden
- 16) 岩崎直子、岡本好司、野入英世、尾形真規子、鎌谷直之、徳永勝士、Pedersen O, 岩本安彦
 Positional cloning によって見出された新規2型糖尿病感受性遺伝子 KCNJ15 の白人2型糖尿病における意義
 第53回日本糖尿病学会総会
 2010年5月27-29日岡山
- 17) Ogata M, Iwasaki N, Awaji T, Fujimaki R, Takizawa M, Iwamoto Y
 Mutation of HNF4a/MODY1 (Q268XHNF4a) gene affects the mitochondrial function in cultured living β cells; evaluation by a new original system.
 14th International Congress of

Endocrinology

2010 April

[図書] (計6件)

1) 岩崎直子

KCNJ15 遺伝子

pp129-131 別冊プラクティス「糖尿病とヒトゲノム Q&A」

安田和基 編 全ページ150

医歯薬出版 2011年5月20日 発行

2) 岩崎直子、岡本好司、徳永勝士

新規アジア人 2型糖尿病感受性遺伝子 *KCNJ15*.

糖尿病学 2011、pp97-105

編集者 岡芳知, 谷澤幸生 総ページ146

診断と治療社 2011年5月16日 発行

3) 尾形真規子、岩崎直子

ミトコンドリア糖尿病の臨床的特徴と診断基準

糖尿病レクチャー別冊 vol11, No3, pp 437-446

総号医学社 2011年1月1日 総ページ621

4) 岩崎直子

若年発症2型糖尿病とMODY

糖尿病学の進歩 (第44集) 2010 p-66-70

編集者 社団法人 日本糖尿病学会

診断と治療社 2010年9月20日

5) 岩崎直子

3. 糖尿病の成因と分類 b)2型糖尿病の成因と病態

糖尿病診療 2010

生涯教育シリーズ79「日本医師会雑誌」第139刊, 特別号(2)p58-61, 2010年10月

6) 岩崎直子

第2章 20. MODY pp 144-145

糖尿病ナビゲーター 第2版 総ページ数473 ページ

門脇 孝 編

2010年9月10日発行 メディカルレビュー社

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩崎 直子 (IWASAKI NAOKO)

研究者番号: 70203370

(2) 研究分担者

中西敏雄 (NAKANISHI TOSHIO)

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号: 90120013

(H22 分担研究者)

(3) 連携研究者

尾形真規子 (OGATA MAKIKO)

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号: 10233404