

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591346

研究課題名(和文) 2型糖尿病発症因子解明のための戦略：機能分割と再統合

研究課題名(英文) The strategy for elucidation of diabetogenic factors: functional partition and reintegrate

研究代表者

馬場谷 成 (BABAYA, Naru)

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：10449837

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：2型糖尿病は、複数の遺伝子により構成される遺伝因子と、環境因子の複雑な相互作用により発症する多因子疾患であり、ヒトを用いた解析では感受性遺伝子同定は困難である。本研究では、糖尿病モデルマウスおよび交配実験において得られたコンソミック・コンジェニック系統を用いて、2型糖尿病の疾患感受性遺伝子領域を同定し、その作用機序を解明した。

研究成果の概要(英文)：Type 2 diabetes are multifactorial diseases caused by a complex interaction of environmental and genetic factors, with the latter consisting of multiple susceptibility genes, making it difficult to clarify their functions and interactions in conferring susceptibility to type 2 diabetes in humans. In this study, we constructed consomic and congenic strains, in which the NSY-derived diabetogenic region was introgressed onto the genetic background of control mice. We succeeded to localize and characterize the function of diabetogenic region in the NSY.

研究分野：糖尿病

キーワード：糖尿病疾患感受性遺伝子

1. 研究開始当初の背景

2 型糖尿病は全世界で増加の一途をたどっており、日本においてもその例外ではない。最近の統計では(厚生労働省 2007 年国民健康・栄養調査)、日本国内において 890 万人もの糖尿病患者の存在が指摘され、糖尿病の可能性を否定できない人を含めると 2210 万人にものぼる。2 型糖尿病は、複数の遺伝子により構成される遺伝因子と、環境因子の複雑な相互作用により発症する多因子疾患である。その多くは、弱い疾患感受性遺伝子の集積により生じるため、ヒトを用いた解析では感受性遺伝子同定は難しく、さらにその遺伝子間相互作用の解析になると不可能に近い。さらに、ヒトでは環境因子を一定にすることができないことも、遺伝子間相互作用、遺伝子-環境間相互作用の解明に結びつかない原因である。

この点を克服するため、これまで我々は、2 型糖尿病モデルマウス(NSY マウス)を用い、分子遺伝学的手法を駆使し、病態・遺伝など多岐にわたる情報を発信してきた(*Diabetes* 56:239-47, 2007、*Diabetologia* 50:1641-8, 2007、*Biochem Biophys Res Commun* 328:158-64, 2005、*Metabolism* 50:1282-5, 2001、*Diabetes Res Clin Pract* 53:67-71, 2001、*Endocr J* 48:241-7, 2001、*Diabetologia* 43:932-8, 2000、*Metabolism* 49:651-6, 2000)。また、コンジェニック系統(糖尿病を発症するマウスの糖尿病感受性遺伝子座を、非糖尿病マウスへ導入した系統)を新たに樹立することにより、単純化したモデルとして分離し、それぞれの糖尿病感受性領域の作用機序を解析した。それらの領域を有するマウスを交配することにより、2 つの領域を併せ持つマウスを作製し、遺伝子間相互作用の解析を行ってきた(Babaya N et al. *Diabetologia* 53:1362-71, 2010)。

2. 研究の目的

本研究では、コンソミック・コンジェニック系統を用いて、2 型糖尿病の原因となる遺伝子の同定と、作用機序を解明することにより、複雑な糖尿病体質の全貌を分子レベルで明らかにし、テーラーメイド化された予知・予防、治療法の確立に貢献することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)11 番染色体上に位置する 2 型糖尿病発症にかかわる遺伝子 (*Nidd1n*) の作用メカニズムを明らかにするために、NSY マウス(糖尿病マウス)由来の 11 番染色体のみを、C3H マウス(非糖尿病マウス)に導入・置換したコンソミックマウスを作成した。マウスでは 11 番染色体は 2 対あり、その両染色体を NSY マウス由来の染色体に置換したホモマウスと、その片方のみ置換したヘテロマウスの表現型を C3H マウスと比較し、*Nidd1n* の糖尿病表現型に対する効果を検討した。

(2)14 番染色体上に位置する 2 型糖尿病発症にかかわる遺伝子 (*Nidd2n*) の感受性遺伝子同定とその作用メカニズムを明らかにするために、NSY マウス(糖尿病マウス)由来の 14 番染色体のみを、C3H マウス(非糖尿病マウス)に導入・置換したコンソミックマウス(C3H-14^{NSY})を作成した。作成したコンソミックマウスは、NSY 由来の 14 番染色体全体を保有するため、その感受性遺伝子同定には、より限局した染色体領域を有するコンジェニックマウスが必要であり、我々は新たに、2 系統のコンジェニックマウス(R1,R2)を作成し、*Nidd2n* の責任遺伝子座同定と機能解析を進めた。(図 1)

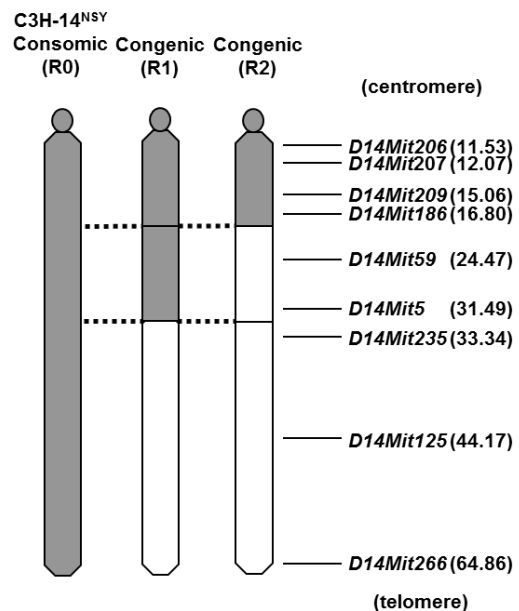


図 1 本研究で作出したコンソミック、コンジェニック系統

灰色：NSY 由来の染色体、白色：C3H 由来の染色体

(Babaya N, et al., *BMC Genet* 15, 2014, 1-10 より引用)

4. 研究成果

(1)ヘテロ個体は C3H マウスに比し、空腹時および糖負荷後血糖の有意な上昇を認めしたが、NSY ホモにおける血糖上昇には及ばなかった(図 2)。糖負荷後のインスリン分泌反応は、ヘテロにおいて C3H ホモに比し有意ではないものの低い傾向を示し、NSY ホモと同程度であった。HOMA-R は、有意ではないものの、ヘテロにおいて C3H に比し高い傾向を示し、NSY ホモと同程度であった。ストレプトゾトシン(STZ)負荷後の糖尿病発症率は、NSY ホモで最も高く、ヘテロは NSY ホモと C3H ホモの間であった(図 3)。この結果、NSY 由来の 11 番染色体上の遺伝子(群)は、糖尿病および STZ 感受性に対して、相加的効果を示すことが明らかにされた。

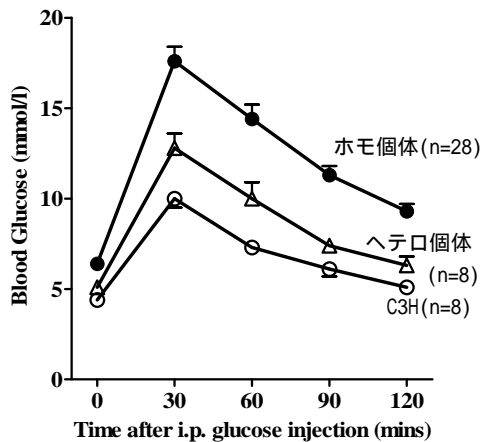


図2 48週齢での腹腔内糖負荷試験 (Babaya N, et al., *J Diabetes Res* 2013, 2013, 1-6 より引用)

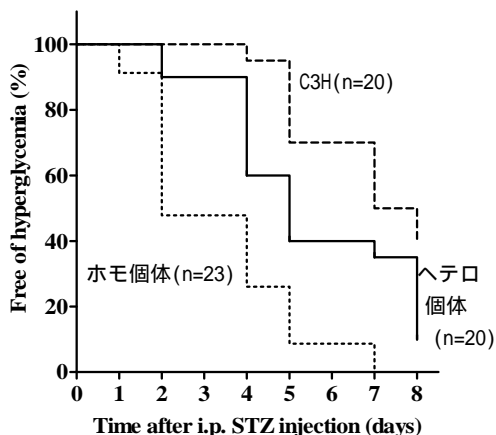


図3 12週齢でのストレプトゾトシン負荷試験 (Babaya N, et al., *J Diabetes Res* 2013, 2013, 1-6 より引用)

(2)R0, R1, R2 は C3H マウスに比し、負荷後血糖の有意な上昇を認めた。耐糖能障害の程度は R0 で最も強く、R1 と R2 はともに中程度の耐糖能障害を示した。R0, R1, R2 いずれにおいても空腹時インスリン値は C3H マウスに比し高値であり、インスリン負荷試験における血糖低下反応が悪く、インスリン抵抗性の存在が示された。糖負荷後のインスリン反応は、R0, R1, R2 のいずれにおいても C3H と有意差を認めず、インスリン分泌障害はこれらの系統における耐糖能障害の主たる原因ではないことが示唆された。体重・腹腔内脂肪は R2 においてのみ C3H マウスに比し有意に重く、体重に対する腹腔内脂肪率は、R0, R1, R2 のいずれにおいても C3H マウスに比し有意な上昇を認めた。R0, R1, R2, C3H マウスにおけるレプチン濃度は、腹腔内脂肪量と有意な正の相関を、アディポネクチン濃度は、有意な負の相関を示した。NSY マウスにおけるレプチン濃度も、腹腔内脂肪量と有意な正の相関を示したが、その脂肪量の多さに比べる

とレプチン濃度は、それほど上昇しなかった。NSY マウスにおけるアディポネクチン濃度は、腹腔内脂肪量と相関を認めず、異常な高値を示した(図4)。以上の結果から、14番染色体上にマップした糖尿病関連遺伝子が複数のコンポーネントにより構成されていることが証明された(図5)。

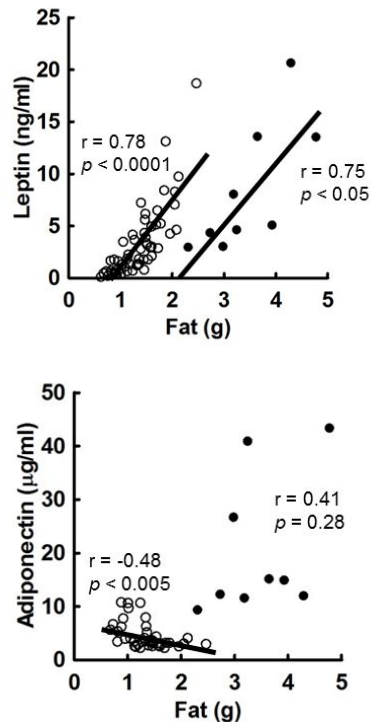


図4 NSY, C3H, R0, R1, R2 におけるレプチンとアディポネクチンと、腹腔内脂肪量の相関
黒丸: NSY, 白丸: C3H, R0, R1, R2 (Babaya N, et al., *BMC Genet* 15, 2014, 1-10 より引用)

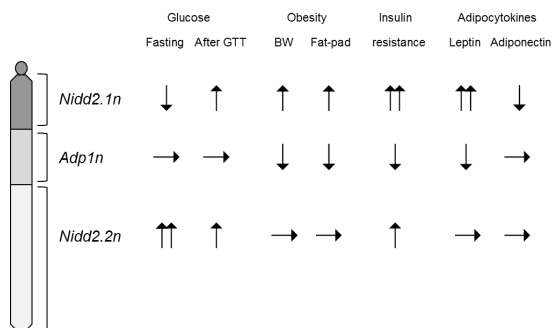


図5 14番染色体上の糖尿病関連遺伝子座 (*Nidd2n*) は、3つのコンポーネント (*Nidd2.1n*, *Adp1n*, *Nidd2.2n*) に分解された (Babaya N, et al., *BMC Genet* 15, 2014, 1-10 より引用)

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8件)

Babaya N (他7名、1番目)、Genetic dissection of susceptibility genes for diabetes and related phenotypes on mouse chromosome 14 by means of congenic strains、*BMC Genet.*、査読有、15、2014、1-10

DOI : 10.1186/s12863-014-0093-8

Babaya N (他8名、1番目) Dose Effect and Mode of Inheritance of Diabetogenic Gene on Mouse Chromosome 11、*J Diabetes Res.*、査読有、2013、2013、1-6

DOI : 10.1155/2013/608923

Noso S, Babaya N (他11名、3番目) Association study of *MAFA* and *MAFB*, genes related to organ-specific autoimmunity, with susceptibility to type 1 diabetes in Japanese and Caucasian populations、*J Genet Syndr Gene Ther.*、査読有、4、2013、204-209

Nojima, Babaya N (他4名、4番目) Analysis of hepatic gene expression profile in a spontaneous mouse model of type 2 diabetes under a high sucrose diet、*Endocr J.*、査読有、60、2013、261-274

朴 忠勇、馬場谷 成(他15名、5番目)、円形脱毛症に依存する甲状腺および膵島自己免疫に関する臨床的・遺伝的研究、*近畿大医誌*、査読有、38、2013、107-114

村田 佳織、馬場谷 成(他13名、5番目)、自己免疫性甲状腺疾患に対する主要組織適合遺伝子複合体の関与、*近畿大医誌*、査読有、38、2013、55-61

村田 佳織、馬場谷 成(他7名、5番目)、Graves病の遺伝子解析：HLA Class の関与、*日本体質医学会雑誌*、査読有、75、2013、74-78

Hiromine Y, Babaya N (他6名、5番目) Prolonged hyperinsulinemia after subcutaneous injection of 2400 U regular insulin in a suicide attempt: Time course of serum insulin with frequent measurements、*J Diabetes Invest.*、査読有、3、2012、468-470
DOI : 10.1111/j.2040-1124.2012.00211.x

[学会発表](計30件)

能宗 伸輔、馬場谷 成(他3名、2番目)、NOD マウスにおける膵島特異的リンパ球

浸潤と1型糖尿病発症に及ぼす *Mafa* 遺伝子の役割、**第29回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会**、2015年2月14日、京都、芝蘭会館

前川 智樹、馬場谷 成(他8名、5番目)、マウス NSY 系統のストレプトゾトシン誘発糖尿病感受性の遺伝的解析、**第29回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会**、2015年2月14日、京都、芝蘭会館

吉田 左和、馬場谷 成(他13名、4番目)、サブクリニカルクッシング症候群を合併した褐色細胞腫の一例、**第24回臨床内分泌代謝 Update**、2014年11月28日、さいたま、大宮ソニックシティ

Ito H, Babaya N (他8名、7番目) A case of mixed cortical-medullary tumor accompanied with unilateral multiple micronodules producing aldosterone、*International Symposium on Pheochromocytoma and Paraganglioma 2014*、2014年9月19日、Kyoto、Mielparque Kyoto

武友 保憲、馬場谷 成(他7名、4番目)、自己免疫性1型糖尿病(1A型)におけるインスリン分泌能を規定する遺伝因子の解明、**第64回日本体質医学会総会**、2014年9月7日、大阪、中央電気倶楽部

庭野 史丸、馬場谷 成(他7名、4番目)、1型糖尿病のインスリン必要量に及ぼす加齢の影響：CSII を用いた検討、**第56回日本老年医学会学術集会**、2014年6月14日、福岡、福岡国際会議場

庭野 史丸、馬場谷 成(他16名、4番目)、糖尿病治療のテーラーメイド化に関する研究：膵全摘後糖尿病と1型糖尿病における病態ならびに治療の比較解析、**第57回日本糖尿病学会年次学術集会**、2014年5月24日、大阪、大阪国際会議場

貫戸 幸星、馬場谷 成(他12名、4番目)、糖尿病治療における高用量メトホルミンの有効性と安全性：用量と用法のテーラーメイド化に関する検討、**第111回日本内科学会総会・講演会**、2014年4月11日、東京、東京国際フォーラム

上田 裕紀、馬場谷 成(他6名、2番目)、自然発症2型糖尿病モデル NSY マウスにおける糖尿病発症率の性差と血中アディポサイトカイン濃度との関連、**第28回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会**、2014年2月15日、宮崎、宮崎市民プラザ

安武 紗良、馬場谷 成(他13名、4番目)、

放射線療法後 20 年以上寛解状態を維持しているクッシング病の一例、**第 23 回臨床内分泌代謝 Update**、2014 年 1 月 24 日、名古屋、名古屋国際会議場

Noso S, Babaya N (他 7 名、3 番目) A search for susceptibility genes contributing to islet-specific autoimmunity in type 1 diabetes by association studies with multiple autoimmune diseases、**13th International Congress of the Immunology of Diabetes Society**、2013 年 12 月 8 日、Mantra Lorne, Australia

貫戸 幸星、馬場谷 成(他 1 4 名、5 番目) 抗甲状腺薬治療に伴う前縦隔腫瘍の縮小経過を追跡し得たパセドウ病の 2 例、**第 56 回日本甲状腺学会学術集会**、2013 年 11 月 15 日、和歌山、和歌山県民文化会館

能宗 伸輔、馬場谷 成(他 1 3 名、3 番目) 甲状腺中毒性周期性四肢麻痺の遺伝子解析：KCNJ18 遺伝子の関与、**第 63 回日本体質医学会総会**、2013 年 10 月 6 日、久留米、久留米大学筑水会館

Noso S, Babaya N (他 4 名、2 番目) Mafa knockout NOD mice are protected from type 1 diabetes despite accelerated infiltration of lymphocytes into islets、**49th European Association for the Study of Diabetes Annual Meeting**、2013 年 9 月 25 日、Barcelona, Spain

貫戸 幸星、馬場谷 成(他 7 名、4 番目) 高齢者におけるメトホルミンの用量及び投与回数に関する検討、**第 55 回日本老年医学会学術集会**、2013 年 6 月 5 日、大阪、東京国際フォーラム

貫戸 幸星、馬場谷 成(他 1 2 名、4 番目) 糖尿病治療のテーラーメイド化に関する研究：高用量メトホルミンの用量ならびに投与回数に関する検討、**第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会**、2013 年 5 月 17 日、熊本、ホテル日航熊本

武友 保憲、馬場谷 成(他 1 2 名、4 番目) 糖尿病治療のテーラーメイド化に関する研究：GLP-1 受容体作動薬の長期効果決定因子に関する検討、**第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会**、2013 年 5 月 17 日、熊本、熊本公徳会武道場

能宗 伸輔、馬場谷 成(他 1 1 名、3 番目) 甲状腺中毒性周期性四肢麻痺患者における KCNJ18 遺伝子の分子遺伝学的解析、**第 86 回日本内分泌学会学術総会**、2013 年 4 月 26 日、仙台、仙台国際センター

村田 佳織、馬場谷 成(他 8 名、5 番目) Graves 病の遺伝子解析：HLA クラス とクラス の関与、**第 110 回日本内科学会総会・講演会**、2013 年 4 月 13 日、東京、東京国際フォーラム

伊藤 裕進、馬場谷 成(他 5 名、4 番目) 前縦隔腫瘍が抗甲状腺薬投与により消失したパセドウ病の 1 例、**第 22 回臨床内分泌代謝 Update**、2013 年 1 月 18 日、埼玉、大宮ソニックシティ

⑳ 武友 保憲、馬場谷 成(他 9 名、5 番目) GLP-1 受容体作動薬の長期効果決定因子に関する検討、**第 62 回日本体質医学会総会**、2012 年 11 月 4 日、大阪、大阪国際会議場

㉑ 村田 佳織、馬場谷 成(他 7 名、5 番目) Graves 病の遺伝子解析：HLA Class I の関与、**第 62 回日本体質医学会総会**、2012 年 11 月 3 日、大阪、大阪国際会議場

㉒ Babaya N (他 4 名、1 番目)、Susceptibility genes for type 2 diabetes and related phenotypes cluster on mouse chromosome 14、**48th European Association for the Study of Diabetes Annual Meeting**、2012 年 10 月 3 日、Berlin, Germany

㉓ 村田 佳織、馬場谷 成(他 1 3 名、5 番目) 甲状腺ホルモン薬の製剤比較：有効性・安全性に及ぼす加齢の影響、**第 54 回日本老年医学会学術集会**、2012 年 6 月 29 日、東京、東京国際フォーラム

㉔ 貫戸 幸星、馬場谷 成(他 5 名、5 番目) GLP-1 受容体作動薬治療における食欲・食行動の定量評価：加齢の影響の検討、**第 54 回日本老年医学会学術集会**、2012 年 6 月 28 日、東京、東京国際フォーラム

㉕ Noso S, Babaya N (他 9 名、3 番目) Association of a functional polymorphism *MAFA* Gly346Cys with susceptibility to type 1 diabetes、**12th International Congress of the Immunology of Diabetes Society**、2012 年 6 月 18 日、Victoria, Canada

㉖ 朴 忠勇、馬場谷 成(他 1 4 名、5 番目) 自己免疫疾患の臓器特異性：円形脱毛症と自己免疫性甲状腺疾患における膵島自己免疫の臨床的・遺伝的比較、**第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会**、2012 年 5 月 18 日、横浜、パシフィコ横浜

㉗ 廣峰 義久、馬場谷 成(他 1 2 名、5 番目)

糖尿病治療のテーラーメイド化に関する研究：インスリンから GLP-1 受容体作動薬への切替え最適化に関する検討、**第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会**、2012 年 5 月 17 日、横浜、パシフィコ横浜

- ⑳ 村田 佳織、馬場谷 成(他 13 名、5 番目)、自己免疫性甲状腺疾患の遺伝子解析：HLA Class I の関与、**第 85 回日本内分泌学会学術集会**、2012 年 4 月 20 日、名古屋、名古屋国際会議場
- ㉑ 朴 忠勇、馬場谷 成(他 8 名、5 番目)、臓器特異的自己免疫疾患の共通性と異質性：円形脱毛症に合併する甲状腺および膵島自己免疫の実態と遺伝解析、**第 109 回日本内科学会総会講演会**、2012 年 4 月 15 日、京都、みやこメッセ

〔図書〕(計 4 件)

馬場谷 成、池上 博司、医薬ジャーナル社、糖尿病治療のニューパラダイム第 2 巻(薬剤一覧表/配合薬)、2014、64-73

馬場谷 成、池上 博司、羊土社、糖尿病の分子標的と治療薬事典(IL-1 受容体、CD3、CD20、GAD65、CTLA-4)、2013、66-75

馬場谷 成、池上 博司、エル・アイ・シー、モデル動物利用マニュアル 疾患モデルの製作と利用 糖尿病・肥満/感染症(自然発症モデル動物 NOD マウス、遺伝子操作動物)、2012、23-28 and 123-129

馬場谷 成、池上 博司、日本臨牀社、日本臨床増刊号 最新臨床糖尿病学(上)(1 型糖尿病の疾患感受性遺伝子)、2012、337-341

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬場谷 成 (BABAYA, Naru)
近畿大学・医学部・講師
研究者番号：10449837

(2) 研究分担者

池上 博司 (IKEGAMI, Hiroshi)
近畿大学・医学部・教授
研究者番号：20221062

川畑 由美子 (KAWABATA, Yumiko)
近畿大学・医学部・准教授
研究者番号：80423185

能宗 伸輔 (NOSO, Shinsuke)
近畿大学・医学部・講師
研究者番号：90460849