

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09842

研究課題名(和文) 糖尿病濃厚家系の遺伝子解明と治療への応用

研究課題名(英文) Elucidation of causal genes of monogenic diabetes and it applies to the medical treatment

研究代表者

古田 浩人 (Furuta, Hiroto)

和歌山県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90238684

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病の原因として単一遺伝子異常が疑われる糖尿病濃厚家系を対象に、全エクソームシーケンス解析法などの新しい手法を用いて原因遺伝子の探索を行った。その結果、インスリン遺伝子においてはイントロン内の変異も原因として重要であること、膵細胞におけるインスリン分泌機構において鍵となる遺伝子であるABCC8遺伝子においては、機能亢進型変異だけでなく、インスリンの過剰分泌を生じ低血糖症の原因として知られている機能低下型変異も糖尿病に移行する可能性があるなどの知見を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病の発症には過食や運動不足といった環境因子に加え遺伝因子が深く関係している。今回得られた、原因遺伝子の探索においてはイントロン内の変異によるスプライシング異常もまた重要であることや低血糖症から糖尿病に移行する遺伝子変異が存在することなどの知見は、糖尿病の病態解明の一助になるものと考えている。

研究成果の概要(英文)：We searched for the causative gene using a new method such as whole exome sequence analysis in a diabetic family with suspected single gene abnormality as the cause of diabetes. We reported that the mutation in the intron is also important as a cause in the insulin gene. Moreover, we reported that in the ABCC8 gene, in addition to activation mutations, inactivation mutations that are known to cause hypoglycemia due to hypersecretion of insulin are also important for the cause of diabetes.

研究分野：代謝内分泌学

キーワード：糖尿病 遺伝因子 インスリン遺伝子 ABCC8 遺伝子 高インスリン血症性新生児低血糖症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病は膵細胞からのインスリン分泌不全と末梢組織におけるインスリン抵抗性の両者により持続的な高血糖をきたす疾患で、その病因には過食や運動不足といった環境因子に加え遺伝因子が深く関係する。「一般的な」2型糖尿病は発症への寄与度が低い遺伝因子が複数個関係している多遺伝子疾患であるが、日々の臨床において糖尿病が家系内の複数のメンバーに発症していることから強い遺伝因子の関与が考えられる家系にしばしば遭遇する。その中で、若年(おおむね25歳以下)発症の糖尿病が常染色体優性遺伝形式で遺伝している家系は、特に、maturity-onset diabetes of the young (MODY)と呼ばれている。MODYは、その遺伝形式から単一遺伝子の異常が原因と考えられること、また、発症が若年であることから多くは祖父母の代も生存しており家系解析にとって有利であるなど、原因遺伝子解析を行う上で様々な利点を有している。当然、その原因遺伝子はひとつではなく、これまでに解糖系の律速酵素のひとつであるグルコキナーゼ(*GCK*)や転写因子である *hepatocyte nuclear factor(HNF)-4 α* 、*HNF-1 α* 、*HNF-1 β* 、膵細胞のATP感受性K(*KATP*)チャネルを構成する *KCNJ11* および *ABCC8* 遺伝子、さらにはインスリン(*INS*)遺伝子などの遺伝子の異常がMODYの原因遺伝子であることが明らかとなっている。さらに、症例の蓄積とともに原因遺伝子ごとに臨床経過や薬剤に対する反応性が異なっていることも明らかとなってきており、遺伝子情報が診療方針の決定に活用されつつある。一方、本邦においては原因が明らかなMODY家系は40%程度に過ぎない。

2. 研究の目的

日本人の糖尿病濃厚家系を対象にその原因遺伝子を解明するとともにその臨床像を解析し遺伝子情報の診療への活用に繋げる。

3. 研究の方法

日本人の糖尿病濃厚家系を対象に、ゲノムワイドな手法を用いた糖尿病の原因遺伝子解析(全エクソームシーケンス解析、必要に応じて全ゲノム解析)を行い原因遺伝子の探索を行った。全エクソームシーケンス解析では、ゲノムからエクソンとその周辺領域をターゲットキャプチャーシステム(SuperSelect Human ALL Exon kit, Agilent)で濃縮を行ったのち、次世代シーケンサーを用いペアードエンド解析でシーケンスを決定した。全エクソームシーケンス解析では、ミスセンス変異、ノンセンス変異、スプライスサイト変異、挿入・欠失変異といった病気の原因となる可能性がある変異は、スクリーニング時点で約2万個見つかるが、原因となる遺伝子変異は一般集団においても高頻度に見つかる「多型」ではなく「稀な変異」であると予想されることから、得られた結果をNCBIのdbSNP、1000ゲノムプロジェクト、NHLBI Exome Sequencing Projectなどのデータベースに登録されている変異情報と比較し絞り込み、さらにPolyPhen2やSIFTなどのプログラムを用いてIn Silico解析を行い変異が機能に与える影響を予測することで可能性の低い変異を除外、最終的に、変異が家系内で糖尿病と連鎖するかを検証することで原因遺伝子を確定した。なお、既知のMODY遺伝子解析(承認番号30)およびゲノムワイドな手法を用いた糖尿病の原因遺伝子解析(承認番号83)に関しては大学の倫理委員会の承認を得ており、対象者には書面にてインフォームドコンセントを行った。

4. 研究成果

(1) 全エクソームシーケンス解析法を用いて解析を行い、インスリン分泌低下型の若年発症重症糖尿病家系(図1)の原因が、インスリン遺伝子のイントロン2でエクソン3との境界から上流 31bp に位置する変異であることを明らかにした。糖尿病発症機序としては、変異により新たなスプライシングサイトが生じ異常なインスリン蛋白が合成されることにより、ER ストレスによる膵β細胞障害が生じる結果、インスリン分泌低下型の重症糖尿病が発症しているものと考えられた(図2、Matsuno S, *J Diabetes Investig*, 2019)。

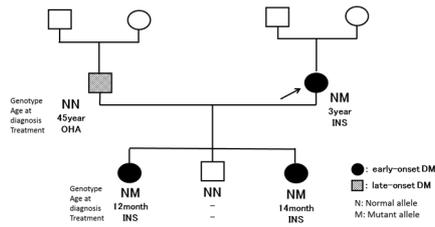


図1 インスリン遺伝子異常による若年発症重症糖尿病家系の家系図

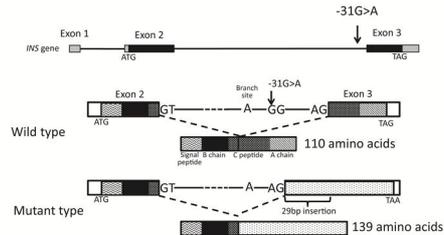


図2 変異部位とその結果産生されると考えられる異常インスリン蛋白の構造

(2) 膵β細胞では、血糖値に比例して細胞内グルコース量およびその代謝により産生されるATP量が増加することで、細胞膜に存在するATP感受性Kチャンネル(KATPチャンネル)が閉鎖しインスリン分泌反応が生じる。ABCC8遺伝子はKATPチャンネルを構成する蛋白の一つであるスルホニル尿素受容体(SUR)1をコードする遺伝子で、機能亢進型遺伝子変異の場合は、KATPチャンネルの閉鎖障害によりインスリン分泌障害が生じ糖尿病を発症する。一方、機能低下型変異の場合は、一般にはインスリン分泌過剰により低血糖症を生じることが知られているが、機能低下型変異が糖尿病の原因と考えられる家系を同定した。

第一家系では、p.Lys1385Gln変異がヘテロ接合体状態で遺伝しており、発端者とその父親は、各々、39歳、55歳時に糖尿病と診断、一方、発端者の息子および娘は高インスリン血症性新生児低血糖症(hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy:HHI)を発症するも

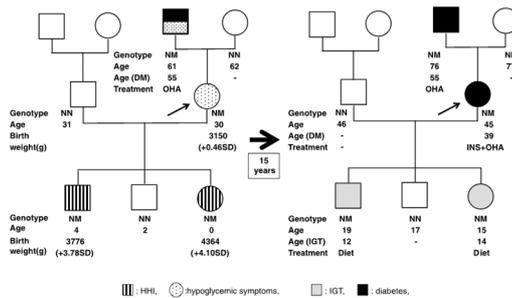


図3 ABCC8遺伝子 p.Lys1385Gln 変異を有し低血糖症から耐糖能障害への移行が観察された1家系

薬物治療で改善、治癒、その後、逆に耐糖能障害が出現していた(図3、Karatojima M, *J Diabetes*, 2020)。

第二家系では、15歳と18歳時に糖尿病と診断されていた若年発症糖尿病の兄弟例において、過去に低血糖症の原因として報告のある2つのABCC8遺伝子の機能低下型変異(p.Arg168Cys変異およびp.Arg1421Cys変異)が複合ヘテロ接合体状態で認められた(図4、Matsutani N, *J Diabetes Investig*, 2020)。

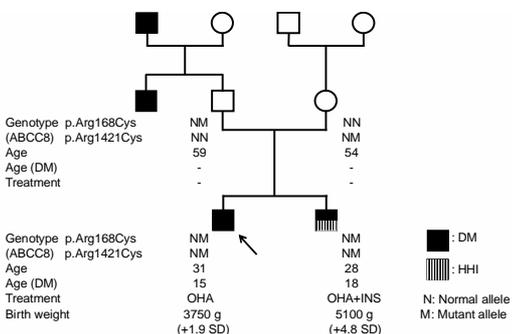


図4 ABCC8遺伝子の機能低下型変異の複合ヘテロ接合体状態が原因と考えられた若年発症糖尿病の1家系

発端者の弟は出生直後にHHIを発症するもその後、改善、治癒し、18歳時に逆に糖尿病と診断されていた。一方、各々

の変異をヘテロ接合体状態で保有する両親においては、明らかな耐糖能異常は認められなかった。これらの結果は、*ABCC8* 遺伝子異常は機能低下型変異もまた日常臨床において糖尿病の原因となることを示唆している。さらに、KATP チャンルの機能低下型変異を発現させたモデルマウスでは膵細胞におけるインクレチンホルモンを介する経路は保たれていることが報告されていたが、我々の2家系の臨床像の解析からも機能低下型変異による糖尿病症例ではインクレチン関連薬が有効であることを示唆する知見が認められた。

3) *ABCC8* 遺伝子の機能亢進型変異の場合は、KATP チャンルの閉鎖障害によりインスリン分泌障害が生じ糖尿病が発症する。*ABCC8* 遺伝子は KATP チャンルを構成する蛋白の一つであるスルホニル尿素受容体(SUR)1 をコードする遺伝子であり経口血糖降下薬の一つであるSU薬はSUR1に結合しKATPチャンネルを閉鎖させることから、機能亢進型変異による糖尿病の場合はSU薬が著効することが知られている。しかしながら、その中長期間の効果に関しては不明であることから、今回、*ABCC8* 遺伝子の機能亢進型変異 (p.Pro1198Leu 変異) による新生児糖尿病症例の6年間の追跡調査を行った。患者は出生後2ヶ月目に糖尿病ケトアシドーシスを発症しインスリン治療が開始されていたが、遺伝子診断後、SU薬(グリベンクラミド)の内服が開始されるとともに血糖コントロールは良好となった(図5、Uraki S, *J Diabetes Investig*, 2020)。

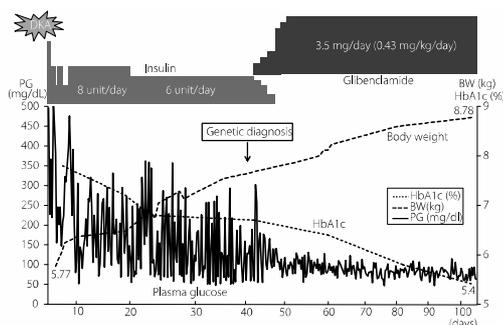


図5 *ABCC8* 遺伝子の機能亢進型変異による新生児糖尿病症例における診断直後のSU薬の治療効果

遺伝子診断後、SU薬(グリベンクラミド)の内服が開始されるとともに血糖コントロールは良好となった(図5、Uraki S, *J Diabetes Investig*, 2020)。さらに、その後の6年間の追跡調査の間、血糖コントロールは良好であり、明らかな副作用は認められず、体重あたりの必要インスリン量は徐々に減少していた(図6)。このことにより、*ABCC8* 遺伝子の機能亢進型変異による新生児糖尿病症例においては、SU薬による治療は中長期間においても安全で有効な治療であると考えられた。

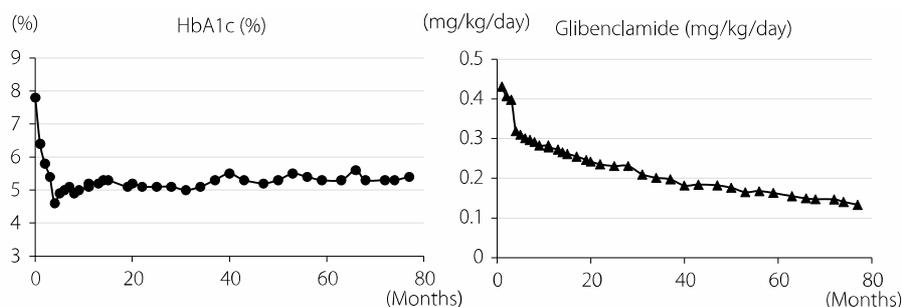


図5 *ABCC8* 遺伝子の機能亢進型変異による新生児糖尿病症例の発症後6年間のHbA1cと体重あたりのグリベンクラミドの投与量の推移

(4) 高インスリン血症性新生児低血糖症(HHI)に対する薬物療法としては、KATP チャンネルオープナーであるジアゾキシドが用いられるが、無効例に対してはオクトレオチド持続皮下注射療法が有効であることが報告されている。今回、オクトレオチド持続皮下注射療法により6年間良好な血糖コントロールが得られているHHI症例を解析し*ABCC8* 遺伝子のヘテロ接合型 p.Leu511Met 変異がその原因であるとの報告を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Matsuno, S., Furuta, H., Kosaka, K., Doi, A., Yorifuji, T., Fukuda, T., Senmaru, T., Uraki, S., Matsutani, N., Furuta, M., Mishima, H., Iwakura, H., Nishi, M., Yoshiura, K., Fukui, M. and Akamizu, T.	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 Identification of a variant associated with early-onset diabetes in the intron of the insulin gene with exome sequencing	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig	6. 最初と最後の頁 Epub ahead
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.12974	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Karatojima, M. Furuta, H. Matsutani, N. Matsuno, S. Tamai, M. Komiya, K. Morita, S. Uraki, S. Doi, A. Furuta, M. Iwakura, H. Ariyasu, H. Nishi, M. Akamizu, T.	4. 巻 12
2. 論文標題 A family in which people with a heterozygous ABCC8 gene mutation (p.Lys1385Gln) have progressed from hyperinsulinemic hypoglycemia to hyperglycemia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Diabetes	6. 最初と最後の頁 21-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1753-0407.12990	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsutani Norihiko, Furuta Hiroto, Matsuno Shohei, Oku Yoshimasa, Morita Shuhei, Uraki Shinsuke, Doi Asako, Furuta Machi, Iwakura Hiroshi, Ariyasu Hiroyuki, Nishi Masahiro, Akamizu Takashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification of a compound heterozygous inactivating ABCC8 gene mutation responsible for young onset diabetes with exome sequencing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 333 ~ 336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13138	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uraki Shinsuke, Furuta Hiroto, Miyawaki Masakazu, Matsutani Norihiko, Shima Yuko, Iwamoto Miki, Matsuno Shohei, Morita Shuhei, Furuta Machi, Doi Asako, Iwakura Hiroshi, Ariyasu Hiroyuki, Nishi Masahiro, Suzuki Hiroyuki, Akamizu Takashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Neonatal diabetes caused by the heterozygous Pro1198Leu mutation in the ABCC 8 gene in a male infant: 6 year clinical course	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 502 ~ 505
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13127	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 松野正平、松谷紀彦、古田浩人	4. 巻 62
2. 論文標題 糖尿病の遺伝素因 単一遺伝子異常による糖尿病、インスリン遺伝子異常と糖尿病	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 糖尿病	6. 最初と最後の頁 468-470
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Furuta H, Matsutani N, Matsuno S, Oku Y, Doi A, Uraki S, Morita S, Furuta M, Nishi M, Akamizu T
2. 発表標題 Mutations in the sulfonylurea receptor 1 gene and diabetes.
3. 学会等名 The 11th Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古田浩人
2. 発表標題 個々の病態に応じた糖尿病診療「単一遺伝子異常による糖尿病とその診療」
3. 学会等名 第56回日本糖尿病学会近畿地方会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松谷紀彦、古田浩人、松野正平、浦木進丞、宮脇正和、唐戸嶋麻衣、玉井昌紀、小宮 圭、土井麻子、森田修平、有安宏之、岩倉 浩、西理宏、鈴木啓之、赤水尚史
2. 発表標題 ABCC8遺伝子変異による糖尿病の臨床像の検討
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩本美紀、宮脇正和、向山弘展、比嘉明日美、津野嘉伸、熊谷 健、奥谷貴弘、樋口隆造、古田浩人、赤水尚史、鈴木啓之
2. 発表標題 オクトレオチド持続皮下注射にてコントロール良好な先天性高インスリン血症の1例
3. 学会等名 第56回日本糖尿病学会近畿地方会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小瀬川真美、古田浩人、松野正平、浦木進丞、松谷紀彦、土井麻子、森田修平、有安宏之、岩倉 浩、西 理宏、赤水尚史
2. 発表標題 HNF1A 遺伝子 p.Arg200Trp ミスセンス変異による MODY3 の1家系
3. 学会等名 第56回日本糖尿病学会近畿地方会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古田浩人、浦木進丞、宮脇正和、松野正平、松谷紀彦、土井麻子、鳥 友子、西 理宏、鈴木啓之、赤水尚史、
2. 発表標題 ABCC8遺伝子変異による新生児糖尿病症例の5年間の臨床経過
3. 学会等名 第55回日本糖尿病学会近畿地方会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 唐戸嶋 麻衣、古田浩人、松谷紀彦、松野正平、玉井昌紀、小宮 圭、土井麻子、森田修平、竹島 健、西 理宏、赤水尚史
2. 発表標題 低血糖症から糖尿病への移行が観察されたABCC8遺伝子変異による糖尿病の1家系
3. 学会等名 第55回日本糖尿病学会近畿地方会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松谷紀彦、古田浩人、松野正平、土井麻子、浦木進丞、古田眞智、土屋 等、有安宏之、岩倉 浩、西 理宏、赤水尚史
2. 発表標題 グルコキナーゼ遺伝子c.680 -1G>A変異によるMODY2の同定と臨床像の検討
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古田浩人
2. 発表標題 シンポジウム “ Genomics & Beyond ” 「 Monogenic diabetes診療の現状と未来」
3. 学会等名 第67回日本体質医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 古田浩人
2. 発表標題 シンポジウム 2 糖尿病の多様性とテーラーメイド医療：病型・病態に応じた治療の最適化「その他のタイプ（単一遺伝子異常による糖尿病）」
3. 学会等名 第54回日本糖尿病学会近畿地方会（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	依藤 亨 (Yorifuji Toru) (60220779)	大阪市民病院機構大阪市立総合医療センター・その他部局等・部長 (84427)	
連携研究者	堀川 幸男 (Horikawa Yukio) (10323370)	岐阜大学・医学部・准教授 (13701)	