

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：13201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24510276

研究課題名(和文) 2型糖尿病疾患感受性SNPから得られる遺伝的情報の臨床的有用性に関する検討

研究課題名(英文) Assessing the clinical utility of the genetic information using the genotype data for GWAS-derived type 2 diabetes susceptibility variants in a Japanese population.

研究代表者

岩田 実 (IWATA, MINORU)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・准教授

研究者番号：20345565

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：14個の確立されている日本人2型糖尿病(T2D)原因遺伝子から成るgenetic risk score(GRS)の臨床的有用性について評価した。724名のT2D患者と763名の対照において14遺伝子のSNP解析を行った。14個のSNPの内、細胞機能に関係する11個のSNPのrisk allele数の合計数を、 T -GRSとし臨床像との関連について評価。T2D患者において T -GRS が高いと、糖尿病診断時年齢は若年化、インスリン分泌能低下、インスリン治療の必要性が増加。以上の結果より T -GRS の測定は、細胞を積極的に保護すべきT2D患者を判別する有用な指標になりうる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the clinical usefulness of a genetic risk score (GRS) based on 14 well-established variants for type 2 diabetes(T2D). We analyzed 14 SNPs at HHEX, CDKAL1, CDKN2B, SLC30A8, KCNJ11, IGF2BP2, PPARG, TCF7L2, FTO, KCNQ1, IRS-1, GCKR, UBE2E2, and C2CD4A/B in 1487 Japanese individuals (724 patients with T2D and 763 controls). A GRS was calculated according to the number of risk alleles by counting all 14 SNPs (T -GRS) as well as 11 SNPs related to β -cell function (β -GRS) and then assessing the association between each GRS and the clinical features. The T -GRS was significantly associated with T2D ($P = 5.9 \times 10^{-21}$). Among the subjects with T2D, the T -GRS was associated with individuals receiving insulin therapy ($P = 0.0431$), age at diagnosis ($P = 0.0029$), and C-peptide index ($P = 0.0125$).

Our data suggests that the β -GRS is associated with reduced beta cell functions and may be useful for selecting patients who should receive more aggressive β -cell preserving therapy.

研究分野：代謝・内分泌学

キーワード：疾患関連遺伝子 ゲノム

1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者数は約 890 万人と日本人における主要な疾患でありその数は今後も増加すると予測されている。2 型糖尿病 (T2D) は遺伝的要因に環境要因が組み合わさって発症する多因子病である。遺伝的素因の解明のため、全ゲノム関連スタディー、候補遺伝子アプローチ、連鎖解析などにより T2D の疾患感受性遺伝子が次々と同定され海外では、現在までに 40 個余りの疾患感受性遺伝子が報告されている。本邦でも GWAS により KCNQ1, UBE2E2, C2CD4A-C2CD4B, KCNJ15 などの遺伝子が世界で初めて T2D 疾患感受性遺伝子である事が報告されてきた。日本人の T2D 発症には、欧米人と異なり KCNQ1 の貢献度が高いなど、疾患感受性の遺伝子多型 (SNP) には人種差があることも明らかになった。様々なスタディーにより、2011 年時点で 14 個の T2D 疾患感受性遺伝子が日本人 T2D と関連があることが確認されてきた。しかし、個々の遺伝子の糖尿病発症のオッズ比 (OR) については、1.1~1.5 と低いものであり、T2D 患者個々人の遺伝的素因について評価する際には、一つ一つの疾患感受性遺伝子ではなく T2D 疾患感受性遺伝子の risk allele 数の合計数 (Genetic risk score; 以下 GRS と略す) で評価する必要がある。しかし GRS の糖尿病発症予測能は、従来からの臨床的ナリスクスコア (家族歴、BMI、性、年齢など) の発症予測能を上回るものではなかった。

2. 研究の目的

SNP 解析を行い得られた遺伝的情報は臨床面でどのように応用可能か、その有用性は現時点では不明である。今回の研究では、既報の日本人 T2D 疾患感受性遺伝子の risk allele 数の合計数から成る GRS の臨床的な有用性や、又、GRS が T2D 発症後にどのような影響を与えるか、について評価する事を目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、富山大学遺伝子解析研究に関する倫理審査委員会で承認 (遺認 19-8 号) され、他、各研究協力施設における倫理委員会でも承認されている。

サンプルの収集及び対象

富山大学第一内科あるいは協力施設の外来に 2 型糖尿病 (T2D) にて通院中、或いは入院中の患者から case のサンプルを選定した。一方、2 型糖尿病以外の疾患や健康診断等で通院中で、「2 型糖尿病と診断されない者」の定義を満たす者を対照 (control; CON) として選定した。他の CON の条件としては、1. 年齢 50 歳以上、2. HbA1c (NGSP 値) 6.0% 未満、3.

二等親以内の家族に糖尿病がない、以上の条件を満たす者とした。

上記のような該当基準を満たす、T2D 患者 724 名、CON 763 名を本研究の対象とした。

試料の処理および遺伝子解析

連結可能匿名化された試料は SRL 社の研究担当者により処理され、血液から遺伝子 DNA が抽出された。この遺伝子 DNA は富山大学第一内科研究室に搬送・保管された。同研究室において、既報の日本人 T2D 疾患感受性遺伝子である HHEX (rs1111875), CDKAL1 (rs7756992), CDKN2A/B (rs10811661), SLC30A8 (rs13266634), KCNJ11 (rs5219), IGF2BP2 (rs4402960), PPARG (rs4402960), TCF7L2 (rs7903146), FTO (rs8050136), KCNQ1 (rs2237892), UBE2E2 (rs7612463), C2CD4A-C2CD4B (rs7172432), GCKR (rs780094), IRS-1 (rs2943641) の計 14SNPs に関して Tac Man PCR 法を用いて genotyping 及び allele の同定を行った。又、当科で収集した試料等を研究協力機関 (理化学研究所遺伝子多型研究センター、東京大学医学部附属病院糖尿病・代謝内科) に提供する場合にも、上記のように提供前に試料および個人診療情報ともに連結可能匿名化されており、提供先の機関では個人識別情報との連結が不可能な状況であった。

臨床情報の収集

T2D においては、糖尿病診断時年齢、体重歴、家族歴、罹病期間、FPG、HbA1c、インスリン分泌能 (F-CPR, $CPI (=F-CPR \times 100 / FPG)$)、治療内容などについて調査する。対照においても体重歴、FPG、HbA1c、インスリン分泌能、原疾患などについて調査した。

解析内容

(1) T2D と CON における前述した SNPs における risk allele frequency (RAF) の違いを性、年齢、BMI で調整したロジスティック回帰分析を用い有意差検定を行い、オッズ比を算出した。

(2) また、既に日本人 T2D 疾患感受性 SNPs である事が認知されている 14SNPs から成る GRS (T-GRS) を算出した。又、T-GRS の内でも、インスリン抵抗性に関わると考えられている SNPs (PPARG, FTO, IRS-1) から成る GRS (R-GRS と称す)、T-GRS から R-GRS を除いたインスリン分泌障害に関わると考えられる 11SNPs から成る GRS (-GRS) も構築した。対照 763 例、2 型糖尿病患者 724 例において T-GRS、R-GRS、 -GRS と臨床像 (糖尿病発症年齢、体重歴、罹病期間、インスリン分泌能 (F-CPR, $CPI (=F-CPR \times 100 / FPG)$), HOMA-), インスリン抵抗性 (HOMA-R)、治療内容、糖尿病診断時に施行された 75gOGTT におけるインスリン分泌など) との関連性について、横断的検討を行った。

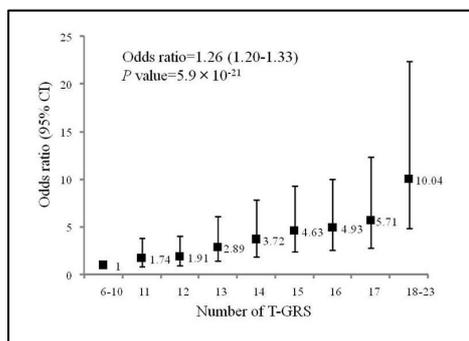
(3) 又、我々が収集したサンプルの一部は、

研究協力機関（理化学研究所遺伝子多型研究センター、東京大学医学部附属病院糖尿病・代謝内科）に提供し、新規 T2D 原因遺伝子の探索・解析、又、海外で確認されている T2D 原因遺伝子の replication study に使用された。

4. 研究成果

(1) 今回解析が行われた 14 種の SNP の内、CDKAL1 (rs7756992), CDKN2B (rs10811661), SLC30A8 (rs13266634), KCNQ1 (rs2237892), KCNJ11 (rs5219), IGF2BP2 (rs4402960), IRS-1 (rs2943641), GCKR (rs780094) が T2D と有意な関連を示した ($P < 0.05$)。

(2) 又、三種の GRS は全て T2DM と有意な関連を示したが、中でも T-GRS ($OR = 1.26$; $P = 5.9 \times 10^{-21}$), -GRS ($OR = 1.26$; $P = 1.1 \times 10^{-19}$) との関連が強かった。特に T-GRS が高い群 (18~23) では低い群 (6~10) に比べて T2D の OR は約 10 倍になった (下図)。



次に GRS と糖尿病の臨床像との関連について検討した。CON と食事・運動療法のための T2DM の計 860 名の集団において、個々の SNP や T-GRS は HOMA- β , HOMA-R と有意な相関を示さなかったが、-GRS と R-GRS はそれぞれ、HOMA- β ($P = 0.025$)、HOMA-R ($P = 0.0004$) と有意な相関を示した。次に T2DM 724 名において T-GRS と糖尿病臨床像との関連について検討したところ、T-GRS は、最大既往 BMI ($\beta = -0.225$; $P = 0.002$)、糖尿病診断時年齢 ($\beta = -0.663$; $P = 0.0008$)、インスリン分泌能の指標である F-CPR ($\beta = -0.032$; $P = 0.025$)、F-CPI ($\beta = -0.027$; $P = 0.031$) と有意な負の相関を示し、又、インスリン治療の必要性と有意な正の相関を示した ($\beta = 0.249$; $P = 0.029$)。T-GRS の数で T2DM 724 名を三分位して同様に検討すると、高 T-GRS 群は、低 T-GRS 群に比べて糖尿病診断時年齢 (歳) は若く (49.8 vs 52.5, $P < 0.001$)、最大既往 BMI (kg/m^2) は低く (27.1 vs 28.5, $P < 0.01$)、インスリン治療の割合 (%) が大であった (34.9 vs 22.7, $P < 0.05$) (下図)。

T-GRS	Low	Intermediate	High	P values* Multivariate
Age at diagnosis (years)	52.49±11.42	52.65±10.49	49.81±12.43	<0.001
Maximum BMI(kg/m^2)	28.52±4.63	27.05±3.93	27.13±4.23	0.002
Insulin requirement (%)	22.73	32.79	34.87	0.044

-GRS は T-GRS と同様に、インスリン治療の必要性と有意な正の相関を示し ($\beta = 0.013$; $P = 0.04$)、又、糖尿病診断時年齢 ($\beta = -0.608$; $P < 0.01$)、F-CPR ($\beta = -0.036$; $P = 0.014$)、F-CPI ($\beta = -0.031$; $P = 0.018$) と有意な負の相関を示し、その相関の程度は T-GRS よりも大であった。R-GRS はいずれのパラメーターとも有意な相関を示さなかった。研究協力者の前田らにより、14 個より更に多い 49 個の既知の T2D 疾患感受性 SNP から成る GRS でも上記結果と同様に GRS が高いと、糖尿病診断時年齢が若年化する事が報告されている。

(3) 研究協力者との共同研究により、新規 2 型糖尿病原因遺伝子の報告が行われた。ANK1 (rs515071) が、前田らのグループより、MIR129-LEP (rs791595), GPSM1 (rs11787792), SLC16A13 (rs312457) の三つが、原らのグループより新規 2 型糖尿病原因遺伝子である事が報告された。他、欧米を含めた海外で 2 型糖尿病遺伝子である事が報告されている SNP に関しても日本人 2 型糖尿病原因遺伝子になりうるかどうか replication study が行われ、その結果についても前田らのグループから多数報告された。

<引用文献>

- McCarthy MI. N Engl J Med, 363:2339-2350, 2010.
- Unoki H et al. Nat Genet 40:1098-1102, 2008.
- Yasuda K et al. Nat Genet 40:1092-1097, 2008.
- Yamauchi T et al. Nature Genet 42:864-869, 2010.
- Okamoto K et al. Am J Hum Genet. 86:54-64, 2010.
- Lyssenko V et al. N Engl J Med. 359:2220-2232, 2008.
- Iwata M et al. Diabetes Care 35:1763-1770, 2012.
- Imamura M et al. J Clin Endocrinol Metab. 98:E1667-1673, 2013.
- Imamura M et al. Hum Mol Genet, 21:3042-3049, 2012.
- Hara K et al. Hum Mol Genet. 23:239-246, 2014.

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 11件)

Sakai K, Imamura M, Tanaka Y, Iwata M, Hirose H, Kaku K, Maegawa H, Hirota H, Watada H, Tobe K, Kashiwagi A, Kawamori R, Maeda S. Replication study for the association of rs7578597 in THADA, rs10886471 in GRK5 and rs7403531 in RASGRP1 with susceptibility to type 2 diabetes in a Japanese population. *Diabetology International* 2015. DOI 10.1007/s13340-015-0202-6

Matsuba R, Sakai K, Imamura M, Tanaka Y, Iwata M, Hirose H, Kaku K, Maegawa H, Watada H, Tobe K, Kashiwagi A, Kawamori R, Maeda S. Replication Study in a Japanese Population to Evaluate the Association between 10 SNP Loci, Identified in European Genome-Wide Association Studies, and Type 2 Diabetes. *PLoS One*. 7;10:e0126363, 2015. DOI:10.1371/journal.pone.0126363.

Hara K, Fujita H, Johnson TA, Yamauchi T, Yasuda K, Horikoshi M, Peng C, Hu C, Ma RC, Imamura M, Iwata M, Tsunoda T, Morizono T, Shojima N, So WY, Leung TF, Kwan P, Zhang R, Wang J, Yu W, Maegawa H, Hirose H; DIAGRAM consortium, Kaku K, Ito C, Watada H, Tanaka Y, Tobe K, Kashiwagi A, Kawamori R, Jia W, Chan JC, Teo YY, Shyong TE, Kamatani N, Kubo M, Maeda S, Kadowaki T. Genome-wide association study identifies three novel loci for type 2 diabetes. *Hum Mol Genet*. 23:239-246, 2014. DOI: 10.1093/hmg/ddt399.

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 Invest*. 4:168-173, 2013. DOI: 10.1111/jdi.12017.

Fukuda H, Imamura M, Tanaka Y, Iwata M, Hirose H, Kaku K, Maegawa H, Watada H, Tobe K, Kashiwagi A, Kawamori R, Maeda S. Replication study for the association of a single-nucleotide polymorphism, rs3746876, within KCNJ15, with susceptibility to type 2

diabetes in a Japanese population. *J Hum Genet*. 58:490-493, 2013. DOI: 10.1038/jhg.2013.28.

Imamura M, Shigemizu D, Tsunoda T, Iwata M, Maegawa H, Watada H, Hirose H, Tanaka Y, Tobe K, Kaku K, Kashiwagi A, Kawamori R, Maeda S. 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. DOI:10.1210/jc.2013-1642.

Sakai K, Imamura M, Tanaka Y, Iwata M, Hirose H, Kaku K, Maegawa H, Watada H, Tobe K, Kashiwagi A, Kawamori R, Maeda S. Replication Study for the Association of 9 East Asian GWAS-Derived Loci with Susceptibility to Type 2 Diabetes in a Japanese Population. *PLoS One*. 8:e76317, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0076317.

Fujita H, Hara K, Shojima N, Horikoshi M, Iwata M, Hirota Y, Tobe K, Seino S, Kadowaki T. Variations with modest effects have an important role in the genetic background of type 2 diabetes and diabetes-related traits. *J Hum Genet*. 57:776-9, 2012. DOI: 10.1038/jhg.2012.110.

Imamura M, Maeda S, Yamauchi T, Hara K, Yasuda K, Morizono T, Takahashi A, Horikoshi M, Nakamura M, Fujita H, Tsunoda T, Kubo M, Watada H, Maegawa H, Okada-Iwabu M, Iwabu M, Shojima N, Ohshige T, Omori S, Iwata M, Hirose H, Kaku K, Ito C, Tanaka Y, Tobe K, Kashiwagi A, Kawamori R, Kasuga M, Kamatani N, Diabetes genetics replication and meta-analysis (DIAGRAM) consortium, Nakamura Y, and Kadowaki T. A single-nucleotide polymorphism in ANK1 is associated with susceptibility to type 2 diabetes in Japanese populations. *Hum Mol Genet*, 21: 3042-3049, 2012. DOI: 10.1093/hmg/dds113.

Iwata M, Maeda S, Kamura Y, Takano A, Kato H, Murakami S, Higuchi K, Takahashi A, Fujita H, Hara K, Kadowaki T, and Tobe K. Genetic risk score constructed using 14 susceptibility alleles for type 2 diabetes is associated with the early onset of diabetes and may predict the future

requirement of insulin injections among japanese individuals. Diabetes Care, 35: 1763-1770, 2012. DOI: 10.2337/dc11-2006.

Fukuda H, Imamura M, Tanaka Y, Iwata M, Hirose H, Kaku K, Maegawa H, Watada H, Tobe K, Kashiwagi A, Kawamori R, and Maeda S. A single nucleotide polymorphism within DUSP9 is associated with susceptibility to type 2 diabetes in a Japanese population. PLoS One, 7: e46263, 2012. DOI:10.1371/journal.pone.0046263.

〔学会発表〕(計 5件)

Iwata M, Maeda S, Kamura Y, Takano A, Kato H, Murakami S, Higuchi K, Temaru R, Asamizu S, Oda H, Fukushima Y, Tobe K. Comparison of clinical usefulness between type 2 diabetes genetic risk score and family history in Japanese type 2 diabetic patients. 14th International Diabetes Federation, 2013.

Iwata M, Maeda S, Kamura Y, Takano A, Kato H, Murakami S, Higuchi K, Temaru R, Oda H, Asamizu S, Fukushima Y, Fukuda K, Yamazaki K, Usui I, Tobe K. Type 2 diabetes genetic risk score is more strongly associated with basal insulin secretion and insulin requirement than family history in Japanese type 2 diabetic patients, 49th Annual Meeting of the European-Association-for-the-Study-of-Diabetes, 2013.

岩田 実, 前田士郎, 加村裕, 高野敦子, 村上史峰, 加藤弘巳, 福島泰男, 手丸理恵, 赤川直次, 樋口清博, 薄井勲, 石木学, 小橋親晃, 山崎勝也, 浦風雅春, 浅水幸恵, 井窪万里子, 小田寛文, 五十嵐保文, 多喜和子, 福田一仁, 戸辺一之. Genetic risk score と糖尿病家族歴の情報から成る family history score の糖尿病臨床像との関連性における比較検討. 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2013, 5, 熊本.

岩田 実, 前田士郎, 加村 裕, 高野敦子, 村上史峰, 加藤弘巳, 福島泰男, 手丸理恵, 赤川直次, 樋口清博, 薄井 勲, 石木 学, 小橋親晃, 山崎勝也, 浦風雅春, 浅水幸恵, 井窪万里子, 小田寛文, 五十嵐保史, 多喜和子, 福田一仁, 戸辺一之. FTO 遺伝子多型は男性において糖尿病発症に関連する. 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会,

2012, 5, 横浜.

岩田 実, 前田士郎, 加村 裕, 高野敦子, 手丸理恵, 加藤弘巳, 赤川直次, 村上史峰, 樋口清博, 戸辺一之. 遺伝的リスクスコア (Genetic risk score) は糖尿病診断時年齢やインスリン分泌能と関連する. 第 109 回日本内科学会総会, 2012, 4, 京都

〔図書〕(計 1件)

岩田 実, 戸辺一之. 14 個の 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子から成る遺伝的リスクスコアは、日本人において、糖尿病の診断時年齢と相関し、将来的なインスリン治療の必要性の予測に有用である. Diabetes update. 2: 92-94, 2013

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩田 実 (IWATA Minoru)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・准教授

研究者番号: 20345565

(2) 研究分担者

戸辺 一之 (TOBE Kazuyuki)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・教授

研究者番号: 30251242

(3) 研究協力者

原 一雄 (HARA Kazuo) 研究者番号: 50359600
東京大学医学部附属病院 糖尿病・代謝内科

前田士郎 (MAEDA Shiro) 研究者番号: 50314159
琉球大学大学院医学研究科 先進ゲノム検査医学講座・独立行政法人理化学研究所遺伝子多型研究センター

加村 裕 (KAMURA Yutaka)

中川 肇 (NAKAGAWA Hajime)

高野敦子 (TAKANO Atsuko)

加藤弘巳 (KATO Hiromi)

手丸理恵 (TEMARU Rie)

福島泰男 (FUKUSHIMA Yasuo)

樋口清博 (HIGUCHI Kiyohiro)

多喜和子 (TAKI Kazuko)

五十嵐保文 (IGARASHI Yasuhumi)

沢崎茂樹 (SAWASAKI Shigeki)