

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460690

研究課題名(和文) HLAによる糖尿病の新分類の試み

研究課題名(英文) HLA and classification of diabetes

研究代表者

大沼 裕 (Onuma, Hiroshi)

愛媛大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：00294794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではHLA Class IおよびClass IIの主要遺伝子座を解析し、HLAにインスリン分泌能、自己免疫性を統合した新たな糖尿病の分類を試みることを目的とする。目標の糖尿病患者 約2700名、コントロール約2000名の検体の収集を終了した。HLAタイピングについては 1200名×6座位 7200タイピングをこれまでに終了した。糖尿病患者1500名のGAD抗体を解析した。GAD抗体陽性率は10.2%であり、既報の日本人の陽性率より高率であった(Takeda H et al. Diabetes Care. 2002 25(6):995-1001)。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to perform new classification of diabetes by typing loci in HLA Class I and Class II(A, B, C, DR, DQ, DP) together with clinical information. We have collected 2700 samples of DNA and serum from diabetic patients and 2000 samples of those from control. HLA typing has been finished in 1200 DNA samples in diabetic patients and controls so far. GAD autoantibodies were determined in 2700 diabetic patients. GAD autoantibodies were detected in 10.2% in 1500 diabetic patients, which is higher than those in previous report in Japanese (Takeda H et al. Diabetes Care. 2002 25(6):995-1001).

研究分野：糖尿病内科学

キーワード：HLA 糖尿病 GAD抗体

1. 研究開始当初の背景

HLA Class II は 1 型糖尿病において、最も強い疾患感受性遺伝子である。我々は、HLA Class II の 1 型糖尿病感受性のハプロタイプの頻度を検討し、GAD 抗体陽性の非インスリン依存糖尿病が GAD 抗体陽性のインスリン依存糖尿病と正常者の中間であることを報告した。一方、白人では、1 型糖尿病感受性の HLA DQ のハプロタイプの頻度が 1 型糖尿病で最も高く、LADA(日本における緩徐進行 1 型糖尿病)、2 型糖尿病の順で低くなることが報告されている。すなわち、1 型糖尿病と 2 型糖尿病は同じ遺伝的背景の上に存在する可能性がある。さらに HLA Class I と糖尿病の発症、発症年齢の関連も明らかにされている。これらは、HLA という遺伝因子に基づく、新たな糖尿病分類の可能性を示唆する。

2. 研究の目的

HLA Class I および Class II の主要遺伝子座を解析する。そして、HLA にインスリン分泌能、自己免疫性を統合した新たな糖尿病の分類を試みる。

3. 研究の方法

1 型または 2 型糖尿病患者(その他特定の機序、疾患による糖尿病は除く) 対照として耐糖能正常者より DNA ならびに空腹時血清を採取し、HLA Class I および Class II のタイピング(A, B, C, DR, DQ, DP 各座の遺伝子型) および GAD 抗体など糖尿病の臨床マーカー、臨床情報の解析を行う。HLA 遺伝子のタイピングは、PCR-SSOP(Sequence Specificoligonucleotide Probe)法により、Luminex 社の xMAP テクノロジーを用いて行った。

4. 研究成果

まず、約 100 サンプルについて HLA の A, B, C, DR, DQ, DP それぞれ 6 ローカスのタイピングを行った。解析目的の 6 ローカスとも 95%以上の割合でタイピング可能であった。今回採用した PCR-SSOP(Sequence Specificoligonucleotide Probe)法による、Luminex 社の xMAP テクノロジーを用いた HLA 解析法が、以後の HLA 解析システムとして有用であることが明らかになった。

目標の糖尿病患者 約 2700 名、コントロール約 2000 名の DNA および血清検体を

収集を終了した。HLA タイピングについては 6 座位 X 1200 名、7200 のタイピングを現在までに終了した。糖尿病患者約 700 名の臨床情報の収集しデータベース化した。

現在、1 型糖尿病のマーカーとして臨床に用いられている GAD 抗体については、1500 名の糖尿病患者を解析した結果、GAD 抗体陽性率は 10.2%であり、既報の日本人の陽性率より高率であった(Takeda H, et al. Diabetes Care. 2002 25(6):995-1001)。

現在までにタイピングが終了したものに対して解析を行うと、1 型糖尿病において DRB1 04:05, DRB1 09:01, DRB1 08:02, DQB1 04:01, DQB1 03:03, DQB1 03:01 のアレル頻度が 2 型糖尿病に対して高かった。また、DRB1 15:01, DRB1 15:02, DQB1 06:01, DQB1 06:02 のアレル頻度が 1 型糖尿病に対して 2 型糖尿病において高かった。

今後、研究期間内に完結できなかった、HLA タイピング、インスリン分泌能の解析、臨床情報のデータベース化を引き続き進める予定である。

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 2 件)

1. 大沼 裕, 牧野 英一, 大澤春彦
DIHS と劇症 1 型糖尿病 日本体質医学
学会雑誌 78 巻 1 号 P1-6 2016.2
(査読なし)
2. 牧野 英一, 大沼 裕, 大澤 春彦 【1
型糖尿病の成因と病態】 1 型糖尿病
発症と薬剤 DIHS と 1 型糖尿病
月刊糖尿病 7 巻 5 号 P39-47
2015.05 (査読なし)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

大沼 裕 (Onuma , Hiroshi)

愛媛大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：00294794

(2)研究分担者

高田 康德 (Takata, Yasunori)

愛媛大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20432792

大澤 春彦 (Osawa, Haruhiko)

愛媛大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90294800

川村 良一 (Kawamura, Ryoichi)

愛媛大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90533092