

審査の結果の要旨

氏名 堀越 桃子

本研究は日本人 2 型糖尿病の発症に関与する遺伝素因の解明のため、日本人 2 型糖尿病の罹患同胞対法による全ゲノムマッピングで得られた 9 ヶ所の疾患感受性遺伝子座 (1p36-p32, 2q34, 3q26-q28, 6p23, 7p22-p21, 9p, 11p13-p12, 15q13-q12, 20q12-q13) に含まれ、これまでの知見から糖尿病モデル動物等の実験から糖尿病の病態に関わる分子と考えられる中で、その遺伝子座が 1p36-32 に存在する PRKAA2 遺伝子と、20q12-13 に存在する HNF4 α 遺伝子という 2 つの候補遺伝子について遺伝子多型(SNP)と 2 型糖尿病との相関を検討した。下記に結果を記す。

1. PRKAA2 遺伝子の 9 つの exon-intron-junction およびプロモーター領域を直接シーケンスして見出した 4 つの新たな SNP と公開データベースに報告されている 6 つの計 10 個の SNP について 192 人の 2 型糖尿病患者と 272 人の正常対照者[1 次パネル]における患者対照関連解析をおこなったが、単一の SNP で 2 型糖尿病と相関するものは認められなかった。
2. 10 個の SNP 間のペアワイズ連鎖不平衡係数 (D' , r^2) を EM アルゴリズムを用いて推定し、 $r^2 \geq 0.8$ 以上を示す SNP 群を一つのハプロタイプ群と考え、各ハプロタイプ群から 1 つずつ選択した SNP から構成されるすべての n ハプロタイプについて $2 \times n$ の X^2 検定で 2 型糖尿病との相関を解析した。計 6 個の SNP (rs2051040, rs2796494,

rs2143754, rs1418442, rs932447, rs3738568)の組み合わせによるハプロタイプのうち、5%以上の比較的頻度の高いハプロタイプは4つあり、一つのハプロタイプが有意に2型糖尿病と相関した($p=0.0032$)。同様の結果が1次パネルとは独立した2次パネル(657人の2型糖尿病患者と552人の正常対照者)においても追試された($p=0.011$)。このハプロタイプは6つのSNPのうちrs2051040についてのみマイナーアレル(Aアレル)をもち、それ以外のSNPはすべてメジャーアレルを有するハプロタイプであった。

3. 各SNPと糖尿病関連指標との関連を糖代謝正常者において解析したところ、rs2051040がインスリン抵抗性と有意に相関した。すなわちAアレルをもつ群(AA+AG群)は持たない群(GG群)に比べ、有意にインスリン抵抗性が高かった($p=0.0020$)。同様の結果が2次パネルでも追試された($p=0.037$)。
4. rs2051040がインスリン抵抗性に関する at risk allele であり、これを有する haplotype が有意に糖尿病と相関したにもかかわらず単独のSNPでは2型糖尿病と相関を示すものは認められなかったことから2型糖尿病を規定する真のSNPとしては①at risk haplotype と連鎖不平衡にあり、2型糖尿病を真に規定する未知の機能性SNPが存在するか、②ハプロタイプを構成するSNPの協調的作用によって糖尿病が引き起こされている、という可能性が考えられる。
5. HNF4 α 遺伝子については隣特異的に発現しているP2プロモーター領域を中心に他民族(Finnish, Ashkenazi Jewish)で2型糖尿病との相関が認められている多型を含めて

1 2 個の SNP で前述の 1 次パネルにおける患者対照関連解析をおこなったが、単独の SNP で 2 型糖尿病と相関を認めるものはなかった。

6. 隣り合う 2 つの SNP によるハプロタイプ解析をおこなったところ、P2 プロモーター領域上流 10kb から下流 1.2kb に存在する 4 つ SNP; rs4810424, rs1884613, rs1884614, rs2144908 の間の組み合わせによるハプロタイプでは、糖尿病患者と正常対照者間で有意な頻度差が認められた(1 次パネルで各々 $p=4.0 \times 10^{-27}$, $p=0.26$, $p=1.4 \times 10^{-27}$)。特に rs1884614, rs2144908 の組み合わせによるハプロタイプは 2 次パネルでも有意に 2 型糖尿病との関連が追試され($p=0.0029$)、この領域に 2 型糖尿病を規定する真の SNP が存在する可能性が示唆された。

以上より罹患同胞対法による日本人 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子座に含まれる候補遺伝子について網羅的に SNP を検索し患者対照関連解析をした結果、PRKAA2 遺伝子と HNF4 α 遺伝子において 2 型糖尿病と関連するハプロタイプが見いだされた。また全ゲノムアプローチ(位置的情報)と候補遺伝子的アプローチ(機能的情報)の融合は疾患感受性遺伝素因の解析に有用であること、ハプロタイプ解析が同様に有用であることが示され、今後の日本人 2 型糖尿病遺伝素因の解明につながるものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。