

## 論文の内容の要旨

論文題目 ゲノムワイド関連解析を用いた一塩基多型解析による 2 型糖尿病感受性遺伝子同定に関する研究

氏名 藤田 逸人

### <背景>

近年、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) により 50 個弱の 2 型糖尿病関連遺伝子が同定されてきた。これらの多くが欧米からの報告である。日本人は欧米人に比べ肥満度が低いものの、内因性インスリン分泌能が低く、欧米人ほどの肥満になる前に糖尿病を発症すると考えられている。したがって、糖尿病を発症させる個々の遺伝素因については欧米人と日本人では重みづけが異なっていることが予測される。個々の SNP の日本人における重要性は異なっており、実際に日本人を対象とした GWAS で日本人に特徴的な多型が同定されている。

現在進行中の一大国際プロジェクトである 1000 Genomes Project により集団特異的な一塩基多型 (SNP) が同定されている。このデータを基に genotype imputation と呼ばれる実際に観測されていない SNP の推定を行うことで、解析 SNP 数を飛躍的に増加させられる。また、集団特異的な 2 型糖尿病感受性遺伝子を同定できる可能性がある。

これまでの GWAS の解析手法では、稀な 2 型糖尿病感受性遺伝子の検出力は十分ではない。遺伝子領域に存在する複数の rare variant をまとめて解析する方法 (collapsing method) により、検出力を上げられると考えられている。

### 【研究 1 新規 2 型糖尿病感受性遺伝子の探索】

#### <目的>

本研究では日本人で得られた GWAS 結果を基として、更に 1000 Genomes Project で得られたデータを利用して genotype imputation を行い、解析する SNP 数を増やした。これらの結果から新たな日本人 2 型糖尿病候補 SNP を絞り込み、これらの部位で SNP を用いた 2 型糖尿病患者と対照による関連解析を追試し、感受性遺伝子の探索を行った。また、頻度の低い 2 型糖尿病感受性遺伝子の探索を試みた。

#### <方法>

バイオバンクジャパンに登録されている 4470 例の 2 型糖尿病症例、3071 例のコントロール症例を対象として行われた GWAS のデータを利用し、1000 Genomes Project (released 2010-08) の東アジア系集団の SNP データを用いて、genotype imputation を行った。GWAS

データを用いた解析で、P 値 $<1.0\times 10^{-6}$ 以下となった領域を選出し、既報の 2 型糖尿病感受性遺伝子領域を除き、残りの領域について replication 用の第 2 パネルの 2 型糖尿病患者 1200 例、コントロール症例 855 例を用いて replication を施行した。バイオバンクサンプル、第 2 パネルでそれぞれ解析した後に、メタアナリシスを行った。また、アレル頻度 5%以下の rare variant のみを対象とした collapsing method を用いて、頻度の低い 2 型糖尿病感受性遺伝子の探索を試みた。

有意に 2 型糖尿病と関連した SNP 周辺の遺伝子について、ヒトの脂肪組織を用いて発現解析を行った。64 例の皮下脂肪、内臓脂肪から RNA を抽出し、皮下脂肪、内臓脂肪での発現量の差を調べた。

#### <結果>

既報の 2 型糖尿病感受性遺伝子以外では、*SLC45A3*、*CTBP1*、*RBFOX1* の遺伝子領域の SNP が P 値 $<1.0\times 10^{-6}$ となった。Replication では、*CTBP1* 遺伝子領域の rs730831 が 2 型糖尿病と有意に関連した (P 値 0.005、OR 1.21、95%CI 1.06-1.39)。バイオバンクジャパンと第 2 パネルのメタアナリシスでは、年齢、性別、BMI で補正後、*CTBP1* 領域の SNP (rs730831) がゲノムワイドに有意に 2 型糖尿病と関連した (P 値  $1.10\times 10^{-9}$ 、OR 1.27、95%CI 1.18-1.37)。

Rare variant に絞った解析では、有意に 2 型糖尿病と関連する遺伝子は見つからなかった。

*CTBP1* 遺伝子の発現は皮下脂肪と比較し、内臓脂肪で有意に低下していた (P 値 0.0061)。*CTBP1* 遺伝子周辺の遺伝子発現は、皮下脂肪と内臓脂肪で差を認めなかった。

#### <考察>

1000 Genomes Project のデータを用いた genotype imputation により、*CTBP1* 領域が 2 型糖尿病と全ゲノムレベルで有意に関連することを見出すことができた。1000 Genomes Project のデータを用いた genotype imputation は新たな 2 型糖尿病感受性遺伝子同定に有用であると考えられる。今後 1000 Genomes Project の進行により genotype imputation の精度が更に上がることで、新たな 2 型糖尿病感受性遺伝子の同定につながると期待される。*CTBP1* 遺伝子が、皮下脂肪と比較し内臓脂肪で発現が低下していたことと、*CTBP1* 遺伝子が白色脂肪細胞関連遺伝子の発現を抑制するという報告を合わせると、*CTBP1* 遺伝子は脂肪でのインスリン抵抗性改善に関与していると推測される。

Rare variant の解析については、複数の手法による照らし合わせを含めて解析手法の更なる発展が必要である。

【研究 2 欧米で報告された 2 型糖尿病指標と関連する遺伝子についての日本人サンプルを用いた追試】

#### <目的>

欧米人を対象とした 21 の GWAS のメタアナリシス (the Meta-Analyses of Glucose and Insulin-related traits Consortium ; MAGIC) では、空腹時血糖や HOMA- $\beta$ 、HOMA-IR と関連する新たな遺伝子が報告された。集団間でアレル頻度の違いや遺伝素因の違いがあると考え

られており、これらの新たな遺伝子が、日本人においても同様の関連を認めるかを調べる必要性がある。本研究では、MAGIC メタアナリシスで同定された遺伝子が、日本人においても空腹時血糖や 2 型糖尿病との関連を認めるかについて調査した。

#### <方法>

東京大学、広島大学の 2 型糖尿病患者 1200 例、コントロール症例 855 例、富山大学の 2 型糖尿病患者 722 例、コントロール症例 763 例、神戸大学の 2 型糖尿病患者 710 例、コントロール 432 例、バイオバンクジャパンの 2 型糖尿病患者 4470 例、コントロール 3071 例を対象とし、MAGIC メタアナリシスで 2 型糖尿病または糖尿病関連形質と有意な関連を認めた 10SNP についてジェノタイピングを行った。

#### <結果>

3SNP が 2 型糖尿病と有意に関連を示した。*GCKR* 領域の rs780094 が P 値=  $8.2 \times 10^{-5}$ , FDR adjusted P 値=  $8.2 \times 10^{-4}$ , OR 1.11、*GLIS3* 領域の rs7034200 が P 値= 0.0059, FDR adjusted P 値= 0.020, OR 1.08、*DGKB- TMEM195* 領域の rs2191349 が P 値=  $1.8 \times 10^{-4}$ , FDR adjusted P 値=  $9.0 \times 10^{-4}$ , OR 1.11 であった。また、*GCKR* 領域の rs780094 は空腹時血糖とも関連を示した (P 値= 0.0013, FDR adjusted P 値= 0.013)。

#### <考察>

*GCKR*、*DGKB- TMEM195* 遺伝子について欧米の結果を追試することができた。*GLIS3* 遺伝子について、欧米人では正常血糖範囲内で血糖上昇と関連していたが、日本人では 2 型糖尿病感受性遺伝子であることが見出された。