



A population association study of four candidate genes (hexokinase II, glucagon-like peptide-1 receptor, fatty acid binding protein-2, and apolipoprotein C-II) with Type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in Japanese subjects

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード: 作成者: 八木, 十詩子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1552

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 275号	学位授与年月日	平成10年 3月 9日
氏名	八木 十詩子		
論文題目	<p>A population association study of four candidate genes (hexokinase II, glucagon-like peptide-1 receptor, fatty acid binding protein-2, and apolipoprotein C-II) with Type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in Japanese subjects (日本人インスリン非依存性型糖尿病及び境界型糖尿病患者における原因遺伝子の検討ーヘキソキナーゼ II, グルカゴン様ペプチド-1受容体、脂肪酸結合蛋白-2、及びアポリポ蛋白 C-II の各遺伝子について)</p>		

博士(医学) 八木 十詩子

論文題目

A population association study of four candidate genes (hexokinase II, glucagon-like peptide-1 receptor, fatty acid binding protein-2, and apolipoprotein C-II) with Type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in Japanese subjects

(日本人インスリン非依存性型糖尿病及び境界型糖尿病患者における原因遺伝子の検討—ヘキソキナーゼ II、グルカゴン様ペプチド-1 受容体、脂肪酸結合蛋白-2、及びアポリポ蛋白 C-II の各遺伝子について)

論文内容の要旨

[目的]

NIDDMの発症には遺伝性の要因が強く関与しており、これまでにインスリン遺伝子、インスリン受容体遺伝子、グルコキナーゼ遺伝子、ミトコンドリア遺伝子など、糖代謝に関与する様々な遺伝子の異常が、耐糖能障害の原因となることが明らかになっている。しかし、これらの遺伝子異常が NIDDM 全体に占める割合はわずか数%に過ぎず、ほとんどの NIDDM 症例における主要な遺伝子異常は未だ不明である。NIDDMにおける耐糖能障害には、インスリン分泌不全とインスリン抵抗性の両者が関与しているため、NIDDM発症の原因となる新たな候補遺伝子—candidate gene—を考慮する際には、この両者の面から検討する必要がある。

そこで本研究においては、1) インスリン感受性組織である、脂肪組織と骨格筋における糖代謝に関与する、hexokinase II(HKII)、2) 食物摂取後のインスリン分泌に重要な役割を果たしている entero-insular axis における、主要な incretin である glucagon-like peptide の受容体、glucagon-like peptide-1 receptor(GLP1R)、及び 3) インスリン抵抗性に影響し、脂質代謝に関与している fatty-acid binding protein-2 (FABP-2) と、4) apolipoprotein C-II(apoC-II) の、計 4 つの遺伝子を candidate gene として選んだ。そして各々の遺伝子について microsatellite DNA polymorphism を用いた population association study により、日本人 NIDDM 及び impaired glucose tolerance (IGT) 患者を対象に、糖尿病発症への関与について検討した。

[対象ならびに方法]

対象は、任意に抽出した日本人 NIDDM と IGT 患者及び正常対照者である。HKII では NIDDM 患者 305 名、IGT 患者 85 名、正常対照者 160 名、GLP1R では NIDDM 患者 190 名、正常対照者 122 名、FABP-2 及び apoC-II では NIDDM 患者 200 名、IGT 患者 100 名、正常対照者 175 名について検討した。

末梢血より genomic DNA を抽出し、³²P で end-label した primer を用いて各遺伝子の microsatellite DNA polymorphism を含む領域を polymerase chain reaction (PCR) にて増幅した。この PCR 産物を 5% denaturing polyacrylamide gel にて電気泳動し各 polymorphism を同定した。

[結果]

HKII においては 18 の allele を認め、その polymorphism information content (PIC) は 0.626 であった。GLP1R では 10 の allele を認め、PIC は 0.835 と高値であった。FABP-2 及び apoC-II ではそれぞれ 7、10 の allele を認め、PIC は 0.629 及び 0.710 であった。各 polymorphism における allele の出現頻度を、NIDDM、IGT、

正常対照群の3群間で χ^2 検定により比較したが、いずれも有意差は認めなかった。

〔結論〕

NIDDMにおけるインスリン抵抗性の特徴として、骨格筋における glycogen 合成の低下が存在することが明らかとなっている。HKIIは、主に骨格筋及び脂肪細胞に発現し、glucose リン酸化の反応を触媒する酵素であるため、HKIIの異常により glycogen 合成障害が生じる、つまり末梢組織における glucose 取り込みが低下し、インスリン抵抗性の増大により耐糖能障害は生じる可能性は充分考えられるが、今回の検討ではNIDDM及びIGT患者において有意な allele は認められなかった。

GLP1Rの異常は、食物経口摂取後のインスリン分泌不全に関与する可能性があるが、今回の検討では日本人NIDDM及びIGT発症の主要な原因であるとは考えられなかった。

FABP-2は、インスリン抵抗性を主な病態とする Pima indians において、インスリン抵抗性、さらには糖尿病発症に関与している可能性が示唆されているが、日本人 NIDDM においては FABP-2 遺伝子異常の糖尿病発症への関与は少ないと思われた。

また、apoC-IIの異常は、glucose-fatty acid cycle を介してインスリン抵抗性を生じる可能性があるが、今回の検討では特にNIDDM、IGTとの相関を認めなかった。

以上、糖尿病発症の原因遺伝子として、インスリン分泌及びインスリン抵抗性に関与する4つの candidate gene の遺伝子異常の有無を、microsatellite DNA polymorphism を用いて検討したが、いずれも日本人 NIDDM 及び IGT における主要な原因遺伝子である可能性は低いと思われた。しかし、一部の NIDDM/IGT 症例における成因となっている可能性は完全には否定できず、今後はさらに subclass 分けした group での linkage や association study を行うことにより、新たな耐糖能異常との関連が明らかになる可能性もあると思われる。

論文審査の結果の要旨

インスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) の発症には遺伝的要因と環境的因子の両者が関与し、遺伝素因のある人がエネルギー過剰摂取などの環境要因を受けて発病することが多いとされている。インスリン分泌不全とインスリン抵抗性がいずれも耐糖能障害の原因になり得るので、インスリンの分泌およびインスリン刺激に対する細胞応答に関与する諸因子の遺伝子が NIDDM の原因遺伝子候補とされ、事実インスリン受容体遺伝子やグルコキナーゼ遺伝子等いくつかの糖代謝に関与する遺伝子の異常が見い出されている。しかし、これら遺伝子異常による NIDDM は全体の数%に過ぎず、NIDDM の主要遺伝子異常は未だ不明である。

NIDDM のように多遺伝子疾患で、しかも遺伝子の異常だけでなく生活習慣によっても発病が左右される場合には、単一遺伝子病で用いられる連鎖解析だけでは原因遺伝子の同定は容易ではなく、ある特定の遺伝子に狙いを定める候補遺伝子法がしばしば用いられる。今回、申請者は hexokinase II (HKII)、glucagon-like peptide 1 受容体 (GLP1R)、fatty acid binding protein-2 (FABP-2)、および apolipoprotein C-II (apoC-II) を候補遺伝子とし、マイクロサテライト DNA の多型解析により NIDDM および impaired glucose tolerance (IGT) とこれら遺伝子の異常との関連を検討した。HKII は主として脂肪細胞および骨格筋で発現しているヘキソキナーゼアイソザイム、GLP1R は食物摂取後のインスリン分泌 (entero-insular axis) における主要インクレチンと推定される glucagon-like peptide の受容体である。また、細胞内での脂肪酸の運搬という役割が推定されている fatty acid binding protein の一つ、FABP-2 はピマ

インディアンにおいてインスリンの作用との連鎖が示唆されており、超低密度リポ蛋白質に豊富に含まれている apoC-II はリポ蛋白質リパーゼ機能の活性化に重要である。脂肪酸代謝障害と NIDDM との関連が示唆されていること等から申請者は FABP-2 と apoC-II も候補遺伝子とした。これら遺伝子はいずれもイントロンにマイクロサテライトを持つので、末梢血より抽出したゲノム DNA のこの部分を³²P-標識プライマーを用いて PCR で増幅し、5%変性 PAGE により解析した。HK-II では正常対照160例、NIDDM305例、IGT85例、GLP1R では正常対照122例、NIDDM190例、FABP-2 および apoC-II では正常対照175例、NIDDM200例、IGT100例を検討した。その結果、HK-II、GLP1R、FABP-2、apoC-II においてそれぞれ18、10、7、10のアレルが検出されたが、正常対照、NIDDM、IGT の3群におけるこれらアレルの出現頻度に有意差 (χ^2 検定) が認められなかった。以上より、日本人の NIDDM/IGT の原因遺伝子がこれら遺伝子である可能性は低いと申請者は考えた。

本研究に関して次のような質疑、試問を行った。

- 1) 全部の正常対照について耐糖テストを行ってあるか
- 2) GLP1Rの解析でIGTを除いた理由
- 3) エキソン以外の領域のマイクロサテライトの多型による表現型異常出現の機構、およびマイクロサテライトDNAの多型以外の遺伝子変異の関与の可能性
- 4) Imigrant study で糖尿病はどうなっているか。例えば、ハワイの日系移民の糖尿病は日本人と米国人のどちらに近い
- 5) この研究では MODY (maturity-onset diabetes of the young) を特に分けているか、家族歴のある例とない例で年齢に差があるか、body mass index で症例を分けてみるとか、家族歴があつて若年発症のケースを特に重点的に調べるといふ類の試みを行ったか。
- 6) アレルの解析において日本人に普通にあるものとそれ以外のものに分けて比較するというところを行ったか
- 7) 標的とした4つの標的遺伝子は世界のどこかで同じ様なデザインで調べられているものか。他のグループと DNA を交換して調べたことはあるか、今回検出された4つの遺伝子のアレル数、主要アレルはCaucasianの場合と同じか
- 8) 標的とした4つの遺伝子のノックアウトマウスは取られているか

これらの質問に対する申請者の答えは概ね適切であり、問題点をよく把握していることを示した。併せて本論文は多くの症例および正常対照を精力的に検討した力作であり、博士(医学)の学位授与に値すると論文審査委員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 市 山 新
副査 教授 大 関 武 彦 副査 教授 梶 村 春 彦