京都大学	博　士（医　　学）	氏　名	田　中　大　祐
論文題目	*GCKR* mutations in Japanese families with clustered type 2 diabetes （日本人２型糖尿病集積家系における GCKR 遺伝子変異の検討）		

（論文内容の要旨）

糖尿病発症には環境因子に加え遺伝因子が重要な役割を果たしている。日本において糖尿病患者は激増しており、その遺伝的背景を明らかにし、発症予測や個別医療につなげることが急務である。近年、糖尿病患者と対照者を用いた全ゲノム相関解析により数々の糖尿病感受性遺伝子座位が明らかとなったが、各座位におけるありふれた変化(common variant)が発症に与える効果は小さく、多くの座位を集積しても発症予測への寄与は小さいものにとどまっている。また、遺伝形式が明らかな家系においても、MODY(maturity-onset diabetes of the young)のように原因遺伝子が同定されるのは僅かであり、日本における糖尿病の遺伝的背景の大部分が未解明と考えられる。糖尿病家族歴濃厚家系検体を用いた全ゲノム連鎖解析を行うことにより、発症原因遺伝子を同定し、糖尿病の遺伝的背景を解明することを目的に検討を行った。

3 世代以上にわたる糖尿病多発集積家系の臨床情報を収集し、書面による同意のもと末梢血検体からゲノム DNA を抽出した。解析に先立ち、10 家系の発端者について既知の MODY 遺伝子の配列決定を行い、変異 *HNF1A* R583G を 1 名に見いだし、当該家系を検討対象から除外した。残り 9 家系のうち 4 家系の親族で研究参加の承諾を得、4 家系、合計 31 名(うち糖尿病 16 名)を全ゲノム連鎖解析の対象とした。4 家系はすべて、50 歳未満での糖尿病発症患者を含んでおり、16 名の糖尿病患者のうち 13 名は非肥満(BMI 25 未満)であった。糖尿病治療は、経口血糖降下薬治療 6 名、インスリン療法 10 名であった。本研究に係わるヒト遺伝子解析は、京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会の承認のもと施行した。

全ゲノムを約 10cM 間隔で網羅するマイクロサテライトマーカーを用いて 31 名のジェノタイピングを行い、Genehunter 2 を用いた全ゲノムパラメトリック連鎖解析を行った。連鎖解析にて高い LOD スコアを示した 2 つの候補領域に対し、マーカーを追加してファインマッピングを行ったところ、そのうちの 1 領域である 2p25-22 の LOD スコアが有意水準に達する 3.47 に上昇した。同領域に関してハプロタイプ解析を行い、25Mb にわたる領域を糖尿病発症原因遺伝子が存在する候補領域として絞り込んだ。候補領域中の遺伝子群について、既知の糖尿病発症原因遺伝子群と機能や発現様式について関連が深いものを、データベースを用いた方法にて優先順位付けした結果、GCKR 遺伝子が最も高い順位となった。同遺伝子について家系発端者 9 名および正常対照者 18 名においてプロモーターおよびエクソンの配列決定を系統的に行った結果、GCKR 遺伝子における minor allele frequency 1%未満の稀な変異が家系発端者に有意に集積していることが明らかとなった(3/18 アレル 対 0/36 アレル, P=0.033)。また、最大家系(患者 9 名)において、エクソン変異 *GCKR* g. 6859C>G が糖尿病発症の有無と一致していた。一方、領域内で優先順位が高位となった他の 7 遺伝子に関してはエクソン内に疾患と一致する変異が存在しなかった。

以上の検討から、糖尿病多発集積家系において、GCKR 遺伝子変異の集積および家系内における GCKR 遺伝子変異と糖尿病発症との一致が確認され、GCKR 遺伝子が日本人糖尿病多発集積家系における糖尿病発症原因遺伝子である可能性が示唆された。糖尿病家族歴濃厚検体を用いた全ゲノム連鎖解析は、全ゲノム相関解析とともに、解析困難な多因子疾患である糖尿病の発症に係わる遺伝子解明手法として有効であることが示唆された。

（論文審査の結果の要旨）

糖尿病発症には遺伝因子・環境因子の双方が重要な役割を果たしている。全ゲノム相関解析により多くの糖尿病感受性遺伝子座が明らかとなったが、得られた多型を集積しても糖尿病発症の遺伝的背景の一部を説明できるにすぎない。一方、糖尿病患者が家系内に集積する例はよく知られているが、多くの家系で原因遺伝子が未同定である。本研究で申請者は、糖尿病多発集積家系検体を用いた全ゲノム連鎖解析により糖尿病発症原因遺伝子の同定を試みた。

既知の糖尿病発症原因遺伝子である MODY1-MODY6 遺伝子変異の存在しない 4 家系について全ゲノムパラメトリック連鎖解析を優性遺伝モデルにて行い、疾患と有意に連鎖する領域を 2p25-22 に見いだした。連鎖領域に存在する全 106 遺伝子に関してデータベースを利用した方法で優先順位付けし塩基配列決定を行ったところ、糖尿病多発集積家系発端者において一般対照者との比較で GCKR 遺伝子変異が有意に多かった。また、患者 9 名を有する大家系において、GCKR 遺伝子変異 *GCKR* g. 6859C>G と疾患発症とが完全に co-segregate していた。以上から、GCKR 遺伝子が日本人糖尿病多発集積家系における糖尿病発症原因遺伝子である可能性が示唆された。

以上の研究は日本人糖尿病多発集積家系における糖尿病発症原因遺伝子の解明に貢献し糖尿病の成因の理解に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（　医学　）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 23 年 3 月 17 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降