The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus
Author(s)	堀川, 幸男
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44642
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【56】

氏　　名	堀　川　幸　男（ほり かわ ゆき お）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１８１５２　号
学位授与年月日	平成 15 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第４条第２項該当
学　位　論　文　名	Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus **（カルパイン 10 遺伝子の遺伝子変異は２型糖尿病と関連している）**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　金倉　　譲 （副査） 教　授　戸田　達史　　教　授　宮崎　純一

論　文　内　容　の　要　旨

［目的］

２型糖尿病患者数は全世界人口の２％を占めると共に糖尿病全体の 90％を占め、先進国においては 45 才以上の 10-20％を占める。２型糖尿病、高血圧、肥満などの生活習慣病、いわゆる Common disease（ありふれた疾患）は現代の生活習慣（環境因子）に起因することは間違いないが、それでも発症に個人差があり遺伝的背景の影響は強いものと考えられる。しかし多遺伝子型で非メンデル型であるため、従来の連鎖解析では原因（感受性）遺伝子を同定できない。２型糖尿病での罹患同胞対解析による全染色体マッピングは種々の民族で行われているが、メキシコ系アメリカ人での疾患感受性遺伝子座（*NIDDM1*）は２番染色体の長腕の遠位部にマッピングされていた。そこで連鎖不平衡に依存する高密度ゲノムスキャニングにて多数の SNPs（Single Nucleotide Polymorphisms）をこの領域に同定し、ハプロタイプを構築することにより、２型糖尿病の原因（感受性）遺伝子とされる *NIDDM1* のポジショナルクローニングを計画した。

［方法と成績］

まず 15 番染色体の遺伝子座 *CYP19* の相互作用を考慮したところ、*NIDDM1* 領域のマルチポイントロッドスコアは 4.0 から 7.3 に上昇し、１ロッド信頼区間は 12 から 7 cM に縮小した。

そしてこの領域のフィジカルマップを主に人工染色体 PAC、BAC を用いて作成し、この領域内の既知の遺伝子と 15 個の EST から解析を始めた。対象としてメキシコ系アメリカ人から構成される 110 人の患者群、任意に選ばれた 112 人のコントロール群をタイピングし、アレル頻度とハプロタイプ頻度を比較しながら関心領域を縮小した。

ハプロタイプの構築はコンティグ上に約 100 kb 間隔で同定した SNPs を用いて開始した。なおハプロタイプの構築は EM（Expectation Maximization）アルゴリズムを用いて施行した。SNP-1、2、19 で作られるハプロタイプ頻度を比較したところ初めて患者群とコントロール群で有意差を示した（P＝0.003）。そこで、高密度な SNPs マーカーマップがこの領域に必要と考え、我々はこの領域の全ての高頻度の SNPs を見い出すべく、*NIDDM1* 領域に強く連関している家系からの８人とそうでない家系からの２人をシークエンスし、179 個の SNPs を同定した。

SNP-43 で我々は任意のコントロール群と糖尿病亜群の間に有意なアリル頻度の差を認めた。即ち、G-アリル（メジャーアリル）の頻度は任意のコントロール群で 0.75 に対し、NIDDMl/CYP19 群で 0.95 を認めた。

次に、SNP-43 を全 170 家系でタイピングしたところ SNP-43 で GG ホモタイプを示すものは全 330 の同胞対の

44%を占めた。この44%の同胞対を使ったマルチポイントロッドスコアは実に9.03となり、残り56%の同胞対では2q37領域にわたり0.00であった。

SNP-43を中心にした約66 kbには3つの遺伝子が認められた。一番目の遺伝子はカルパイン10（*CAPN10*）でカルパイン様プロテアーゼの仲間であり、二番目はオーファンレセプターであるG蛋白共役受容体、*GPR35*である。そして三番目はアミノペプチダーゼBに弱い相同性を示す*RNPEPL1*である。SNP-43のみではオッズ比が1.54（C.I＝0.88－2.41）であったが、連鎖不平衡にもとづき他のタグSNPsを考え合わせたところSNP-19、63等カルパイン10領域の数個のSNPsよりできたハプロタイプ（112/121）がオッズ比3.02（C.I＝1.37－6.64）を示した（1はメジャーアリル、2はマイナーアリル）。この組み合わせはフィンランド、ドイツ人でも糖尿病発症と有意な連関傾向を示した。さらに分子生物学的アプローチにより、イントロン3にあるSNP-43がカルパイン10の発現レベルに影響を及ぼしていることを見い出した。

［総括］

連鎖不平衡に依存する高密度ゲノムスキャニングにより世界で初めて生活習慣病である2型糖尿病の原因（感受性）遺伝子（*NIDDM1*）の同定に成功した。*NIDDM1*は組織非特異的に発現しているカルパイン様プロテアーゼ（*CAPN10*）領域の塩基多型で、この遺伝子構造の変化がカルパイン10の発現量および疾患の発症リスクと有意に関連することを明らかにした。遺伝学的手法により同定されたカルパイン10はその基質、修飾因子を含めて、新しい糖尿病病態機構の存在を提示した。

論文審査の結果の要旨

2型糖尿病患者数は、糖尿病全体の90%を占め、先進国においては45才以上の10-20%を占める。2型糖尿病はいわゆるCommon disease（ありふれた疾患）であり、生活習慣（環境因子）に起因することは間違いないが、それでも発症に個人差があり遺伝的背景の影響は強いと考えられてきた。しかし多遺伝子型で非メンデル型であるため、従来の連鎖解析では原因（感受性）遺伝子の同定が不可能であった。2型糖尿病での罹患同胞対解析による全染色体マッピングは種々の民族で行われ、メキシコ系アメリカ人での疾患感受性遺伝子座（*NIDDM1*）は2番染色体の長腕の遠位部にマッピングされていた。

そこで、本研究では、メキシコ系アメリカ人において、連鎖不平衡に依存する高密度ゲノムスキャニングにて多数のSNPs（Single Nucleotide Polymorphisms）をこの領域に同定し、ハプロタイプを構築し、2型糖尿病の原因（感受性）遺伝子とされる*NIDDM1*のポジショナルクローニングが試みられた。

その結果、世界で初めて‘ありふれた2型糖尿病’の原因（感受性）遺伝子*NIDDM1*としてカルパイン10が同定された。本研究手法は連鎖不平衡に依存した高密度SNPsマッピングに基づく多因子疾患攻略のモデルとなりうる。また、同定されたカルパイン10はその基質、修飾因子を含めて、糖尿病病態における新しい病態機構の存在を提示しており、この新規発見は博士（医学）の学位授与に十分値するものと考えられる。