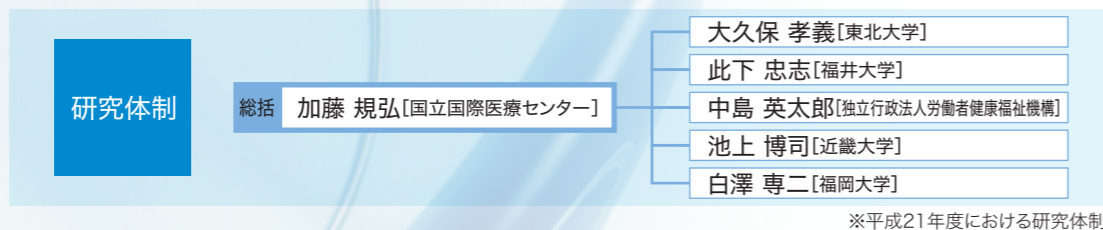
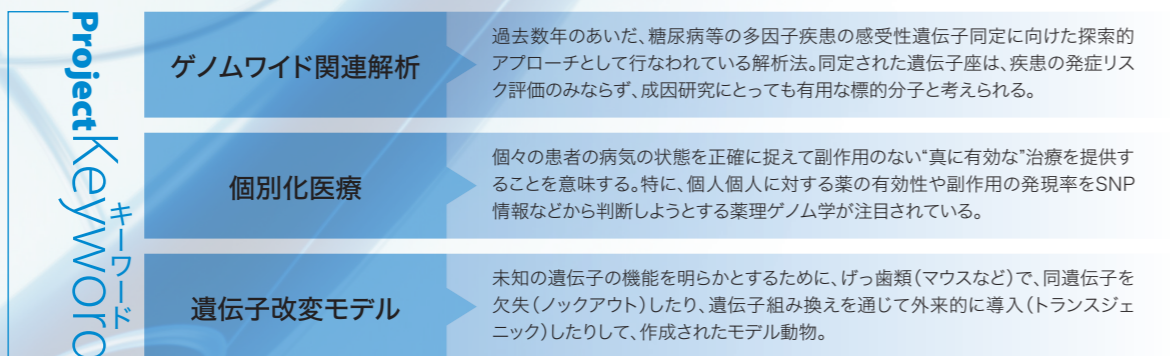


ゲノム情報を活用した糖尿病の先駆的診断・治療法の開発研究

研究期間 平成17年度～平成21年度(予定)



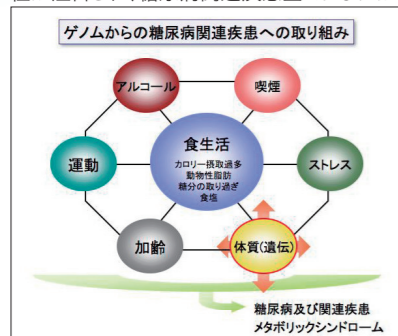
糖尿病及び関連疾患の先駆的医療の推進



1 研究の背景・意義

糖尿病及び関連疾患の診断・治療技術の向上

現在、我が国で糖尿病を患っている人は約740万人、その可能性が否定できない人を含めた数は約1620万人にのぼると推定されている。糖尿病の罹患率は加齢とともに上昇し、60才以上でみると、糖尿病の可能性が否定できない人は、3人に1人という高率になる。生まれつきの体質に、不摂生な生活習慣、例えば高脂肪、高カロリー食品の摂取や運動不足等が加わり、糖尿病は発症すると考えられている。この糖尿病に、腹部(内臓)肥満、高血圧、脂質異常症等の重なり合ったメタボリックシンドロームが、致死的心血管病の発症リスクという観点から大きな社会的関心を集めている。これらの、いわゆる「生活習慣病」と呼ばれる一群の代謝性疾患について、早期診断し、進展リスクの高い人々を選出して一般療法(食事・運動療法)をいかに継続的かつ効率的に実践してもらうか、という点が、高齢化の進む我が国においては、QOL(生活の質)を損わず、医療費を抑制するうえで、健康・保健対策の鍵を握る。また、メタボリックシンドロームの基盤病態として、インスリン抵抗性が注目され、糖尿病関連疾患全てにまたがる根本的な臨床課題

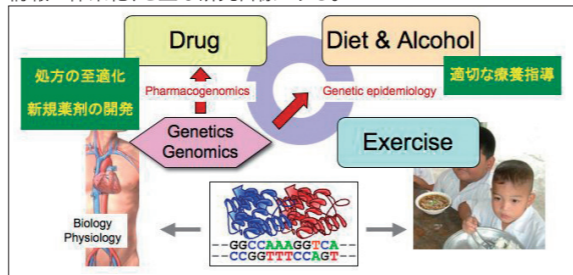


▲体質(遺伝要因)と環境要因の関わりを理解することが、糖尿病及び関連疾患に対する先駆的診断・治療技術の向上につながる。

2 研究プロジェクトの目標

糖尿病等代謝性疾患の診断・治療法開発

新薬が開発され、糖尿病等の代謝性疾患に対する薬物療法の有効性は改善されてきたものの、未だ十分といえず、個々の患者の成因や病態の理解に基づいた次世代の薬物療法(新規の機序の治療薬開発と既存薬の効率的な使い分け)が求められている。全体としてみた場合、食事・運動療法が糖尿病の治療の基本であり、その有効性に関しては、経験的事実に依るのでなく、理論的基盤が求められている。また糖尿病は動脈硬化性疾患(脳卒中、虚血性心疾患や下肢閉塞性動脈硬化症)の主要な危険因子であり、その発症・進展予防のために、適切な血糖制御が望まれる。同時に、糖尿病に合併する細小血管障害も人々のQOLに甚大な影響をもたらしている。疫学調査研究などからは、網膜症・腎症などの糖尿病合併症が、単に高血糖をきたすという意味での糖尿病と、一部独立した遺伝要因をもつことも推測されている。本プロジェクトでは、①糖尿病及び関連疾患の効果的診断法の確立に向けたSNP(single nucleotide polymorphism)診断用キットおよびバイオマーカーの開発、②糖尿病の成因や病態をゲノムから理解することによる次世代の創薬、及び③食事・運動療法の有効性を高めるための理論的基盤確立と薬物療法の効率化等に資する糖尿病関連のゲノム情報の体系化、を主な研究目標とする。

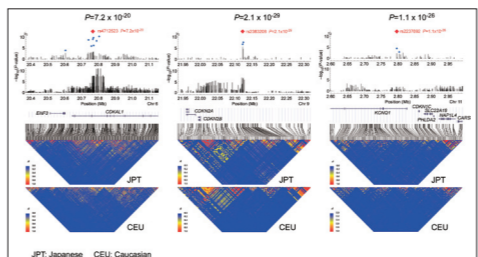


▲糖尿病及び血管合併症等に対して、ゲノム・SNP情報を活用した次世代の薬物療法と理論的基盤に基づく療養指導の開発を目指す。

3 研究プロジェクトの成果

ゲノムワイド関連解析による疾患SNP同定

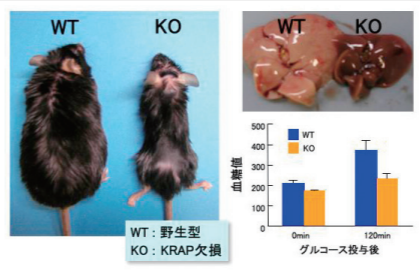
糖尿病及び関連疾患のゲノムワイド関連解析(GWAS)を行なった。2万人余の日本人の集団における多段階解析で、糖尿病について14個、空腹時血糖について5個、脂質について13個、BMI(肥満指数)について6個、脂肪肝・肝酵素について4個、尿酸・痛風について5個、高血圧について6個の遺伝子座・SNPを同定してきた。これらのなかには、本プロジェクトで新規に見出された糖尿病感受性遺伝子PEPDなど、機能未知のものも多く含まれる。またこれらが、疾患の発症リスクを高める機序を明らかにすべく、遺伝子改変モデルの作成を行ないゲノム情報の体系化を進めた。



◀55万SNPを用いたゲノムワイド関連解析によって同定された、日本人における主要な糖尿病感受性遺伝子座の例。

代謝鍵分子KRAPと抗肥満・抗糖尿病

KRAPは、従来、その分子機能及び生理的意義の不明な遺伝子であった。我々は、KRAP遺伝子欠損(KO)マウスを独自に樹立し、同KOマウスが特異的なエネルギー恒常性維持能を有し、抗肥満・抗糖尿病の性質を示すことを明らかにした。これは、KRAP分子と、そのKOマウスの探究が、糖尿病及び関連疾患の発症機序解明と治療法開発に繋がることが示唆される。KOマウスの褐色脂肪組織ではインスリン非依存的な糖代謝亢進が見られ、この知見が糖尿病・肥満に対する新規治療法開発の礎となり得る。またKRAPが機能的に制御する分子を調べ、その分子標的を同定できた。



▶KRAP欠損(KO)マウスは高脂肪食負荷に対して抗肥満や抗糖尿病の性質を示す。

ゲノム機能検証法の開発と活用

2型糖尿病などの多遺伝子性疾患に関して、成因・病態の探究に適切なモデル動物は未だほとんど整備されていない。そこで我々は、多数の遺伝子を組み合わせた解析に有用なモデルシステムを、先ずマウスES細胞にて開発し、更に多重遺伝子改変マウスの確立を目指して、改良を進めた。複数の遺伝子を様々な組み合わせでノックダウンし、その表現型への相乗作用を解析することにより、個別には「マイルド」と考えられる疾患感受性遺伝子の累積効果を直接的かつ定量的に検証し、最終的には、一定レベルの糖尿病(耐糖能障害)状態を「模倣・再構成」することが可能になると期待される。



◀複数のshRNA発現ユニットを持つ交換可能なカセットを、全組織で均一に発現するRosa26遺伝子座に導入できるシステム。

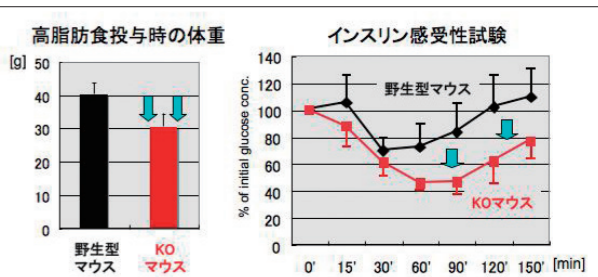
参考文献

- Takeuchi F et al. Confirmation of multiple risk loci and genetic impacts by a genome-wide association study of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes*. 2009;58(7):1690-9.
- Fujimoto T et al. Altered energy homeostasis and resistance to diet-induced obesity in KRAP-deficient mice. *PLoS One*. 2009;4(1):e4240.
- Konoshita T et al. Genetic variant of the Renin-Angiotensin system and diabetes influences blood pressure response to Angiotensin receptor blockers. *Diabetes Care*. 2009;32(8):1485-90.

4 実用化にあたっての今後の課題及び研究方針

病態に基づく疾患SNPの診断的活用

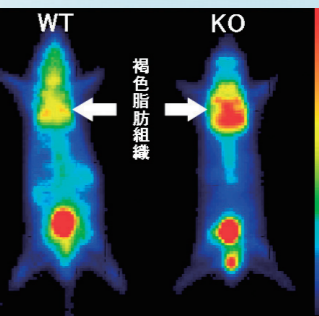
糖尿病が基盤を成すメタボリックシンドローム、及び血管合併症に関して、疾患感受性SNPの同定と臨床的意義の解明を進めた。たとえば糖尿病に関して、特にインスリン分泌不全の遺伝素因を有することが学童期頃に判明していれば、高脂肪食を摂らない食習慣を身につけさせることで、膵β細胞に対する日常的負担を軽減して、糖尿病の発症を予防する(遅らせる)ことが可能になる。しかし、こうした発症予防効果、予後改善効果の推定は、SNP診断キットが開発されただけでは不十分である。モデル動物などを活用した生物学的基盤データに基づいて各SNPの病態的役割がさらに解明され、高精度の臨床情報に基づいた遺伝疫学的研究がなされ、それらの知見が集積して初めて、SNP診断キット活用の実用化レベルは一段と向上することになる。我々はGWASで同定した機能未知の遺伝子の欠損マウスを作成中であるが、同マウスは顕著なインスリン感受性の亢進を示す。この遺伝子は、ヒト疾患ゲノム解析の成果に由来し、その分子レベルの機能を解明することで、新たな機序の抗肥満薬・糖尿病改善薬の開発が期待される。こうした機能未知遺伝子を複数個任意に組み合わせることで変異マウスを作成し、その表現型解析を行うことにより、新たな発症メカニズムの発見にも繋がる。



▲GWASで同定された、機能未知遺伝子の遺伝子欠損(KO)マウスを用いて、新たなインスリン抵抗性改善薬の開発が期待される。

褐色脂肪組織での糖エネルギー代謝の修飾

新規代謝鍵分子KRAPの遺伝子機能の理解に基づいた、糖尿病及び関連疾患の治療法開発を目標に研究を進め、KRAPの生理的意義と分子機能の一端を明らかにした。新規代謝鍵分子KRAPまたはその関連分子を標的として創薬を実用化するためには、代謝改変へと導く、より詳細な関連経路の同定他、分子標的に特異的に作用する機能改変法・導入法の開発等、克服しなければならない課題が残っている。これまでに、我々は、siRNAレンチウイルスベクターを用いてマウスにおける機能改変を試行してきたが、導入効率や特異性の面で未だ十分な結果を得ていない。本プロジェクトで同定した、KRAPの制御する分子群に関する今後の研究は、これらの問題を解決に導く可能性がある。すなわち、KRAP遺伝子自体の発現を改変するのではなく、被制御分子または分子間相互作用に作用する化合物の開発等の、研究戦略も考えられる。またKOマウス褐色脂肪組織で見られる糖代謝の状態に模した状態にするとは、魅力的な代謝改善法の一つである。最近、ヒト成人においても機能的な褐色脂肪組織の存在が報告されていることから、内在性褐色脂肪組織の機能改変などは新規の概念に基づいた治療戦略であり今後の研究課題である。



◀アニマルPETによりKRAP欠損(KO)マウスは、褐色脂肪組織での糖取り込みが亢進していることを明らかにした。