
シンポジウム

糖尿病研究の進歩と治療

Recent Advances in Research and
Treatment of Diabetes Mellitus

第498回新潟医学会

日時 平成6年5月21日(土)午後3時10分～5時10分
会場 新潟大学医学部有壬記念館

司会 山田幸男(信楽園病院)

演者 山崎雅俊(第一内科), 谷 長行(第一内科), 安藤伸朗(眼科学), 津田隆志(木戸病院内科), 鈴木芳樹
(第二内科), 中村宏志(中村内科病院), 岩原由美子(信楽園病院栄養科)

発言者 津田晶子(木戸病院), 佐藤幸示(がんセンター)

司会 これからシンポジウムを始めます。糖尿病の研究の中で、特に成因に関しましては、分子生物学的な手法を用いまして、かなりの事が分かってきました。一方、糖尿病診療の中もゆっくりではありますが着実にいろいろな事が分かってきて、診療レベルが上がってき

ていることと思います。今日は県内では糖尿病の診療などで御活躍の7人の先生方から日頃の新しい分野を含めて、やっておられる仕事をお話していただこうと思います。まず、第一内科の山崎先生お願い致します。

1) 遺伝疾患としての糖尿病
—— 分子生物学的手法と最近の知見 ——

新潟大学医学部第一内科 (主任: 柴田 昭教授)

山崎 雅俊・伊藤 正毅
柴田 昭

Diabetes Mellitua as An Inheritable Disease
— Recent Results Obtained by Molecular Genetics —

Masatoshi YAMAZAKI, Seiki ITO and Akira SHIBATA

*The First Department of Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Akira SHIBATA)*

Although non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) has been widely thought to be an inheritable disease, the identification of a major gene in NIDDM has not been demonstrated by the classical genetics. One of reasons for the failure to find any clear trend was due to the fact that NIDDM is a multifactorial disease, in which several major genes are involved in the onset and progression. This fact was partly demonstrated from monozygotic twin studies. However, we now can have a cue to identify the major genes of NIDDM by virtue of molecular biology (recombinant DNA technology). There are at least three major approach to identify a disease susceptibility gene; classical approach, reverse genetics (positional cloning) and candidate gene approach. Mutations in insulin gene in patients with abnormal insulinemia were identified by classical approach, in which abnormal insulin was firstly isolated from patients' blood, and secondly, the gene coding the abnormal insulin was isolated by molecular cloning. Positional cloning is a method to identify a disease susceptibility gene based on the linkage analysis between various well-known genetic markers and the disease. By this method, it has been demonstrated that gene for maturity-onset diabetes of the young (MODY), a from of NIDDM with an autosomal dominant inheritance is linked to adenosine deaminase gene locus on chromosome 20q. Candidate gene approach is the method to examine whether the genes which are thought to be involved in the abnormal phenotype of a disease, is related to the disease or not. In 1992, close linkage of glucokinase gene locus on chromosome 7p to MODY of French families has been revealed, and furthermore, non-sense mutation in the glucokinase gene has been identified in one of the families. Although the tremedous progress in molecular

Reprint requests to: Masatoshi YAMAZAKI,
The First Department of Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine,
1-754 Asahimachi-dori, Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部内科学第一内科教室
山崎 雅俊

biology is of benefit to us to obtain various genetic informations of NIDDM such as described above, the cases in which mutations in genes were identified until now in Japanese patients with NIDDM are quite rare. Therefore, we might have a time identifying all gene abnormalities in all patients with NIDDM.

Key words: non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM), molecular biology, a disease susceptibility gene, reverse genetics (positional cloning), Candidate gene approach, maturity-onset diabetes of the young (MODY), glucokinase gene
非インスリン依存性糖尿病, 分子生物学, 疾患感受性遺伝子, 逆行性遺伝学, 候補遺伝子アプローチ, MODY, グルコカインース遺伝子

I. はじめに

本日のシンポジウムで私に与えられたテーマは分子生物学的手法であるが, molecular biology により今日までに明らかにされた糖尿病に関わるすべての遺伝子異常について記述するには紙面上の制約もあるため, 本稿では最初に, 糖尿病が遺伝疾患であるとの認識を新たにし, 次に, 非インスリン依存性糖尿病 (NIDDM) の一つの亜型である maturity-onset diabetes of the young (MODY) で発見された遺伝子異常を題材として, 分子生物学的手法による糖尿病感受性遺伝子 (susceptibility gene) の同定法について概説する。

II. 糖尿病と遺伝

1981年のイギリス¹⁾と1992年の我が国²⁾における一卵性双生児研究で NIDDM 発症の一致率はそれぞれ, 91%, 77%と極めて高いことが判明している。この結果は, 厳密には, 子宮内環境による影響も否定できないが, 一卵性双生児の双方が持っている遺伝子は同じであることから, NIDDM 発症に遺伝的要素が強く関与していると解釈出来るものである。他方, 日本人の一卵性双生児の研究で, NIDDM 発症が一致しない例を検討すると, NIDDM 発症一致群に比べ, 現在や過去の BMI (body mass index) がより高いことも判明している²⁾。この2つの事実は, NIDDM 発症に遺伝的要素が強く関与しているものの, 肥満という後天的要素も関与していることを示唆している。すなわち, NIDDM は1~数種類の主効果遺伝子を有する者に, たとえば肥満等の何らかの後天的因子がからみ発症する多因子遺伝疾患と考えられる。このような事柄の他に, ①単純なメンデルの遺伝に従わない ②病因の heterogeneity がある等の理由により, 1970年代までは, 糖尿病の遺伝は遺伝学者の悪夢とさえ言われるほど, その遺伝因子解明の糸口す

らつかめなかった。しかし, 1980年代以降, 分子生物学の技術革命すなわち, recombinant DNA technology の開発進歩により糖尿病発症遺伝子解明へのアプローチが可能となり, 糖尿病発症に関与する遺伝子の解析が進み, 成果があがっている。

III. 糖尿病と遺伝子異常

以前は, 分子生物学的手法による疾患責任あるいは感受性遺伝子の同定は ①代謝合成異常産物を同定, ②その代謝合成異常蛋白のアミノ酸構造の決定, ③その蛋白をコードしている DNA 遺伝子の変異を同定する方法で行われていた。糖尿病の分野では, 異常インスリン血症の遺伝子変異の同定はこのような方法で行われた^{3) 4)}。

このような手法に対して, 近年の recombinant DNA technology の進歩が可能にしたものは, 蛋白異常が未だ未知なる疾患に対するアプローチである。すなわち, 逆行性遺伝学 (Reverse genetics) あるいは Positional Cloning と呼ばれるものである。Positional Cloning とは, ある疾患の遺伝歴濃厚な家系を数多く集積し, 既に染色体での位置が判明している遺伝子マーカーとの連鎖を分解することで疾患遺伝子の染色体での位置を決定し, さらには, 疾患遺伝子の単離同定 (cloning) をしようとするものである。この方法を用いて, Duchenne 型筋 dystrophy の疾患感受性遺伝子が同定された。糖尿病の分野でも, 近年, NIDDM の亜型であり, 常染色体優性遺伝形式をとり, その発症年齢が25歳以下かつインスリン依存性糖尿病のみられるような ICA (抗ランゲルハンス島抗体) が陰性, HLADR3 および DR4 を持たない NIDDM の亜型である MODY^{5) 6)} について, Positional Cloning が試みられた。1991年, Bellらは, 79種類にも上る遺伝子マーカーを用いて MODY との連鎖解析を行い, 20番染色体長腕にあるアデノシン

デアミナーゼ (ADA) 遺伝子と MODY が極めて強い連鎖があることを証明した⁸⁾. このことは, MODY 遺伝子が20番染色体長腕の ADA 遺伝子の近傍に存在することを示唆するものであるが, 現在までの研究では, ADA 遺伝子近傍には糖代謝を司る蛋白をコードする遺伝子はなく, 今だ, MODY 遺伝子自体も cloning されていない.

Positional Cloning は多くの症例を有する家系を数多く必要とすること, 数多くの既知の遺伝子マーカーを必要とすること, 解析に時間, 労力, お金がかかるなどの理由から, 現在, 多くの研究室では, Candidate gene approach が行われている. これは, 疾患により惹起される代謝異常 (異常表現型) に関与する各種蛋白の遺伝子に異常があるか否か調べる方法である. 糖尿病では, 高血糖すなわち, ブドウ糖の代謝異常が異常表現型である. 従って, その原因としては, 1) 膵β細胞からのインスリン分泌不全, 2) 末梢組織におけるブドウ糖受容や利用の異常, 3) 肝臓におけるブドウ糖産生の異常が想定されている. 膵β細胞におけるインスリン分泌不全を例にとると, 図1に示すように, ブドウ糖を感知する Glucose transporter 2 (GLUT2) にはじまり, 解糖系およびこれに関わる酵素, ATP 生成系のミトコンドリア, ATP 感受性Kチャネル, 電位依存性 Ca²⁺ チャネル, インスリンとともに分泌されることが最近明らかとなったアミリンなどがブドウ糖代謝の異常に関与しうると考えられる. このように, ブドウ糖の代謝異常を起

こしうる遺伝子をピックアップし, まとめると表1-aの如くなる.

IV. MODY と Glucokinase 遺伝子

表1のなかで, 膵β細胞からのインスリン分泌不全と肝臓におけるブドウ糖産生の異常双方に関与が想定されている Glucokinase (図1参照) 遺伝子と MODY について検索がなされた. Glucokinase 遺伝子の多型性マーカーを利用した連鎖解析により, 1992年 Frougelらは, フランスの巨大な MODY 家系において Glucokinase 遺伝子との極めて強い連鎖を証明した⁹⁾. さらに, Glucokinase 遺伝子の exon 7 の SSCP (Single-strand conformational polymorphism) 解析 (一つの塩基の置換など変異を起こした対立遺伝子が立体的構造の変化を来すため, 非変性ポリアクリドゲル電気泳動上, 正常な対立遺伝子異なるバンドとして検出されるという原理にもとづく解析法) にて, 先に検索したフランスの MODY 家系の中の一家系で, Glucokinase 遺伝子の exon 7 に塩基配列の変異の存在が示唆された⁹⁾. さらに, この異常遺伝子を cloning し, 直接 DNA シークエンスにより DNA の塩基配列を調べると, 279番目のアミノ酸をコードする塩基が GAG から TAG にかわる non-sense mutation の存在を明らかにした⁹⁾. TAG とは, アミノ酸への翻訳を stop する命名コンドであるため, 465個のアミノ酸よりなるはずの Glucokinase 蛋白が278個しかない蛋白が出来ることになる. この変

表1 a. 糖尿病の異常表現型であるブドウ糖代謝異常を来す可能性のある遺伝子を1. 膵β細胞からのインスリン分泌不全, 2. 末梢組織におけるブドウ糖受容や利用の異常, 3. 肝臓におけるブドウ糖産生の異常に分けて列記した. b. ブドウ糖代謝異常を来す可能性のある遺伝子と今まで日本人で遺伝子異常を証明された症例数.

a. Candidate gene of NIDDM	b. Candidate genes of NIDDM and reported Japanese cases	
1. Impaired insulin release from pancreatic β cells.	insulin gene	~10 cases (families)
insulin gene	glucokinase	4 cases (families)
glucokinase gene	glucose transporter (GLUT2) gene	NONE
glucose transporter (GLUT2) gene	amylin (IAPP) gene	NONE
amylin (IAPP) gene		
mitochondrial gene		
2. Abnormal glucose utilization in the peripheral organs. =insulin resistance.	mitochondrial gene	1~2% of NIDDM
insulin receptor gene	insulin receptor gene	~20 cases (families)
glucose transporters (GLUT4) gene	glucose transporters (GLUT4)	NONE
mitochondrial gene	glycogen synthase	NONE
3. Abnormal glucose production in the liver.	apolioprotein D gene	NONE
glycogen synthase gene		
glucokinase gene		
(4. A minor modifying gene?)		
apolioprotein D gene		

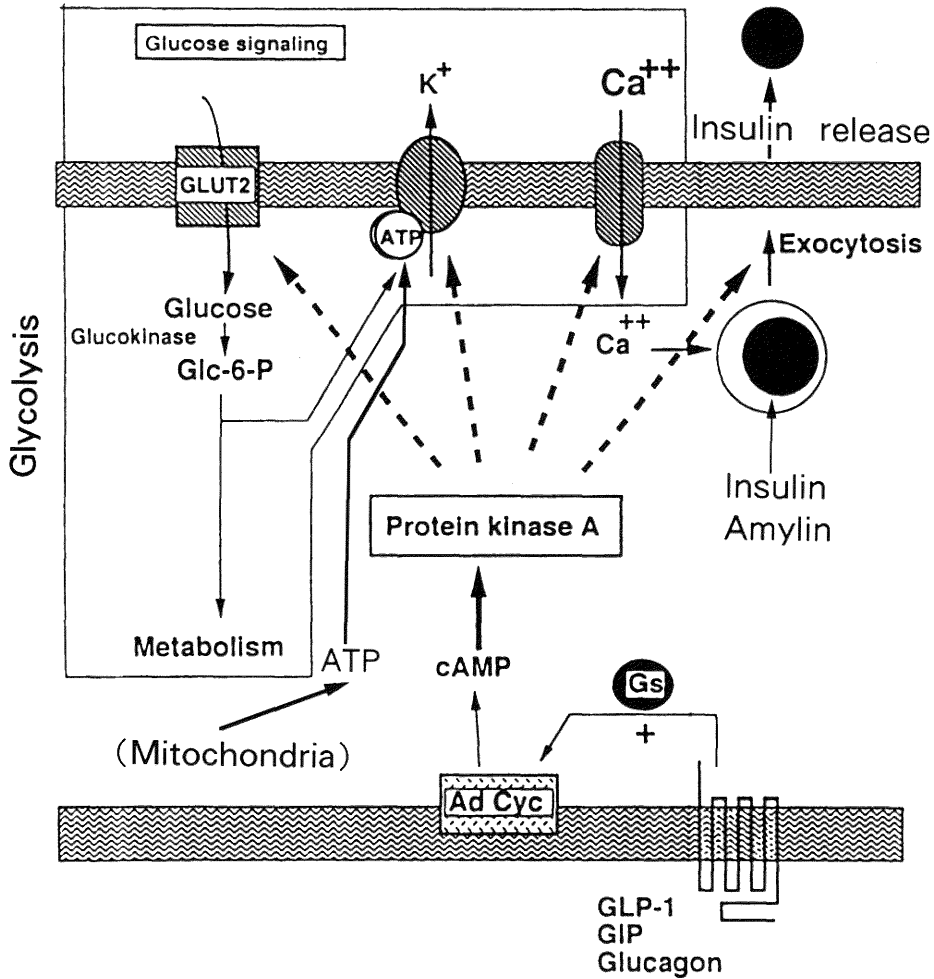


図 1 現在想定されている膵臓β細胞におけるインスリン分泌に関わる各種酵素, イオンチャネルおよび細胞内小器官. インスリンの放出に Ca²⁺ イオンの細胞内への流入が必要といわれている. そこに至るまでにブドウ糖を感知する Glucose transporter 2 (GLUT2) にはじまり, 解糖系およびこれに関わる酵素, ATP 生成系のミトコンドリア, ATP 感受性Kチャネル, 電位依存性 Ca²⁺ チャネル, インスリンとともに分泌されることが最近明らかとなったアミリンなどが関与する. これらすべてが, 膵臓β細胞におけるインスリン分泌不全に関わると考えられる. (Thorens, B. and Waeber, G. *Diabetes* 42: 1219~1225, 1993. の図を改変)

異は, あくまでも single allele の変異であるから正常な Glucokinase 蛋白は少なくとも50%はあるはずである. 恐らく, 異常遺伝子が正常 allele よりの蛋白への翻訳を抑制する等の理由により, 膵臓と肝臓での Glucokinase 酵素活性の病理的な低下を来し, ブドウ糖代謝異常, すなわち, 糖尿病を発症するものと考えられている.

V. おわりに

以上述べてきたように, 遺伝子工学の発達進歩により糖尿病発症に関与する遺伝子の解析は確実に進んでいるが, 表 1-b に示すように, 今や日本人の数%はいるといわれる NIDDM に比べ Candidate gene approach により証明された候補遺伝子の異常は, 最近のミトコン

ドリア遺伝子の異常を除けば、極めて希な症例に限られていることを認識しておく必要がある。このように、我々は、いまやと遺伝子工学の恩恵により NIDDM 病因解明の入り口にさしかかったところであり、今後のさらなる研究の発展が望まれる。

参 考 文 献

- 1) **Barnett, A.H., Eff, C., Leslie, R.D.G. and Pyke, D.A.:** Diabetes in identical twins: A study of 200 pairs. *Diabetologia*, **20**: 87~93, 1981.
- 2) 松田文子: 平成3年度 双生児糖尿病の調査研究. 厚生省糖尿病調査研究事業報告書, 1992.
- 3) **Shoelson, S., Haneda, M., Blix, P., Nanjo, A., Sanke, T., Inoue, K., Steiner, D., Rubenstein, A. and Tager, H.:** Three mutant insulin in man. *Nature*, **302**: 540~543, 1983.
- 4) **Nanjo, K., Sanke, T., Miyano, M., Okai, K., Sowa, R., Kando, M., Nishimura, S., Iwo, K., Miyamura, K., Given, B.D., et al.:** Diabetes due to secretion of a structurally abnormal insulin (Insulin Wakayama): Clinical and functional Characteristics of [LeuA3] insulin. *J. Clin. Invest.*, **77**: 514~519, 1986.
- 5) **Tattersall, R.B. and Fajans, S.S.:** A difference between the inherit ance of classical juvenile-onset and maturity onset type diabetes of the young people. *Diabetes*, **24**: 44~53, 1975.
- 6) **Tattersall, R.B. and Masell, P.I.:** Maturity onset diabetes of the young (MODY): One Condition or many? *Diabetic Med.*, **8**: 402~410, 1991.
- 7) **Bell, G.I., Xiang K-s., Newman M.V., Wu, S-h., Wright, L.G., Fajans, S.S., Spielman, R.S. and Cox, N.J.:** Gene for non-insulin-dependent diabetes mellitus (Maturity-onset diabetes of the young subtype) is linked to DNA polymorphism on human chromosome 20q. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **88**: 1484~1488, 1991.
- 8) **Froguel, P.H., Vaxillaire, M., Jun, F., Velho, G., Zouali, H., Butek, M.D., Lesage, S., Vionnet, N., Clement, F., Fougerousse, F., et al.:** Close linkage of glucokinase locus on chromosome 7p to early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature*, **356**: 162~165, 1992.
- 9) **Vionnet, N., Stoffel, M., Takeda, J., Yasuda, K., Bell, G.I., Zouali, H., Leasege, S., Velho, G., Iris, F., Passa, P.H., Froguel, P.H. and Cohen, D.:** Nonsense mutation in the glucokinase gene causes early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature*, **356**: 721~722, 1991.

司会 ありがとうございます。では谷先生に合併症の進展と血糖コントロールの効果・限界についてお願い致します。