

## 特集 糖尿病の遺伝素因の解明研究

### 多遺伝子型 (polygenic) 糖尿病の解析

# ⑤ 2型糖尿病感受性遺伝子アリの疾患発症機序と病態における意義の解明

堀川 幸男 Yukio Horikawa (岐阜大学大学院医学系研究科内分泌代謝病態学臨床教授)

塩谷真由美 Mayumi Enya (岐阜大学大学院医学系研究科内分泌代謝病態学講師)

● key words GWAS / クロマチン構造解析 / 3C / エンハンサー

### I. ゲノムの三次元構造解明技術の進歩

2007年以降、大規模な2型糖尿病ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study : GWAS) の50本以上の論文が発表されており (GWAS Catalog : <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>), 表に示す遺伝子 (領域) が感受性遺伝子 (領域) として報告されている。検出された1塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) はノンコーディング領域に存在するものが多かったため、どのようなメカニズムで2型糖尿病発症のリスクとなるのか当初は不明であった。しかし、遺伝子解析技術の進歩や次世代シーケンサーの普及とともに、次々と新たな知見が報告されるようになってきた。なかでも転写因子が結合し、遺伝子発現を調節するエンハンサーが大きな注目を集めている。

ヒトのゲノムは伸ばすと2mにもなるため、細胞核の中では畳まれて存在する。畳まれたゲノムがどのような三次元構造を取っているのか、近年急速に解明されつつある。この三次元構造の解明により、離れて存在する遺伝子のプロモーターとも接合するエンハンサーが次々に見い出され、その中に存在するノンコーディングSNPsが疾患のリスクとなりうるものが多く報告されてきた。ゲノム

の三次元構造の解明は、2002年にDekkerらが報告した3C (chromosome conformation capture) という方法から始まっている<sup>1)</sup>。その後3Cをベースとし超高速大量シーケンス技術と結合して4C, 5C, ChIA-PET, Hi-Cと進化発展してきた。3Cを簡単に説明すると、まず細胞内で近接しているDNAの2領域と、結合している転写因子などの蛋白質をホルムアルデヒドで架橋させ固定し (クロスリンク)、Hind IIIやEcoRIなどの制限酵素で切断後、低濃度のDNA下で切断断端をライゲーションさせ (低濃度にする事で非特異的なライゲーションを抑制)、脱クロスリンク後にDNAを精製し、PCR (polymerase chain reaction) あるいはシーケンスにて領域を確認する。4C以降は接合するDNAの2領域をフラグメントとして回収するところまでは3Cと共通であり、その後の検出方法が異なっている。4C (circularized chromosome conformation capture またはchromosome conformation capture-on-chip) はインバースPCRを使用して、ある特定の領域と相互作用をする部位をゲノムワイドに検出する<sup>2)3)</sup>。5C (chromosome conformation capture carbon copy) はマルチプレックスLMA (ligation-mediated amplification) という方法で、数百から数千の断片からなる2グループ間の、数百万カ所にも及ぶ相互作用を検出し、数十Mbの連続あるいは非連