

論文審査の要旨及び担当者

No.1

報告番号	甲 乙 第	号	氏 名	石田 典之
論文審査担当者		職 位 ・学 位	氏 名	印
	主 査	慶應義塾大学健康マネジメント研究科 教授・博士 (医学)	新井 康通	
	副 査	慶應義塾大学健康マネジメント研究科 教授・博士 (医学)	杉山 大典	
	副 査	慶應義塾大学健康マネジメント研究科 教授・博士 (医学)	小熊 祐子	
	副 査	慶應義塾大学健康マネジメント研究科 教授・博士 (工学)	佐藤 泰憲	
(論文審査の要旨) 【背景】肥満は2型糖尿病をはじめとした生活習慣病、心血管疾患のリスク因子である。とりわけ肥満が重大な健康問題となっている欧米では、ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study; GWAS)によって疾患との関連が同定された一塩基多型(single nucleotide polymorphism; SNP)を利用したメンデルランダム化 (Mendelian randomization; MR) を取り入れ、個人の遺伝リスクに基づく個別化予防法、治療法の開発が期待されている。しかし、日本人を含むアジア人では肥満の程度が低くても2型糖尿病を発症する傾向がみられ、欧米とは異なる発症メカニズムが存在する可能性があり、またこれまでの2型糖尿病をアウトカムとした GWAS、MR 研究の多くはヨーロッパ人種を主体としており、アジア人種を対象とした研究が望まれる。そこで本研究では、鶴岡メタボロームコホート研究 (TMCS) のゲノム情報を用い、日本人における body mass index (BMI)に対する遺伝的リスクと2型糖尿病の因果関係を MR 法によって検証することを目的とした。 【研究の構成と概要】 本論文は3つの研究から構成される。 研究1では、TMCS 参加者のうち、2型糖尿病、がん、心筋梗塞、脳卒中、高血圧などの疾患を有する者を除外した 3,745 名を対象として、BMI に対する遺伝的リスク因子である genetic risk score (GRS)_{BMI}を用いて、BMI とインスリン抵抗性の因果関係を線形及び非線形 MR 法によって検証した。GRS_{BMI}は、Bio-Bank Japan (BBJ)データを用いた GWAS により同定された 94SNP のうち、TMCS の quality control (QC)基準を満たした 91SNP を用いて算出した GRS_{BMI91}、感度解析としてインスリン抵抗性と関連する 3SNP を除いた GSR_{BMI88}を用いて対象者を3群 (3分位) に分け、BMI (実測値)ほかの代謝因子との関連を検証した。その結果、GRS_{BMI91}は、BMI、インスリン抵抗性の指標である homeostatic model assessment for insulin resistance (HOMA-IR)、インスリン分泌能の指標である homeostatic model assessment of beta cell function (HOMA-β)と正の関連を示した。非線形 MR では、対象者を doubly-ranked 層別化法を用いて、5層に分割し、各層における localized average causal effect (LACE)推定値を算出した結果、BMI と HOMA-IR の間に J 字型の非線形関係が示唆された。 研究2では、TMSC 参加者のうち、がん、心筋梗塞、脳梗塞の既往、妊娠中、ステロ				

イド治療歴を有するものを除外した 9,377 名を対象として、BMI とインスリン抵抗性の因果関係を線形及び非線形 MR 法によって検証した。解析では、研究 1 で用いた 91 SNP から、2 型糖尿病との関連が報告されている 17 変異を除外した 74 変異から算出した GRS_{BMI91} 、および 91 変異と強い連鎖不平衡 (linkage disequilibrium; LD) を示した 33 変異を除外した GRS_{BMI58} を用いて感度分析を行った。その結果、線形 MR 解析では、BMI と 2 型糖尿病の因果関係が認められた。一方、非線形 MR 解析では、BMI と 2 型糖尿病の因果関係は認められなかった。

研究 3 では、多遺伝子リスクスコア (polygenic risk score; PRS) を用いた MR 法により BMI と 2 型糖尿病の因果関係を検証した。BBJ データから報告された BMI と関連する約 92 万 single nucleotide variant (SNV) のうち、TMCS の QC 基準を満たした約 88 万 SNV を用いて PRS_{BMI} を算出して、2 型糖尿病との因果関係を、非線形 MR 法で検証した。その結果、 PRS_{BMI} は、BMI とは有意な関連を認めたものの、2 型糖尿病の有病割合と有意な関連は認めず、男女に分けた解析でも同様であった。次に、観測された BMI と遺伝的に予測される BMI の差分 (BMI-diff) と 2 型糖尿病の発症割合の関連をロジスティック回帰分析で検証すると、BMI-diff の 1 標準偏差 (standard deviation; SD) 増加に対するオッズ比 (odds ratio; OR) は有意に増加した。BMI-diff の 5 分位と 2 型糖尿病の発症割合の関連では、Q5 (差分が最も大きい群) では、2 型糖尿病に対する発症リスクが有意に増加した。男女別の解析では、男女とも Q5 群で発症リスクが増加したが、女性では調整因子に観察された BMI を含むモデル (Model 2) では Q1 (差分が最も少ない群) においても発症リスクが有意に増加した。

【評価できる点】

GWAS は、疾患の感受性遺伝子の同定、そこから疾患発症のメカニズムの推定に大きな貢献をしており、この結果を応用した MR 解析からも、介入試験の実施が難しい疾患とリスク因子の因果関係を推定する研究で多くの成果が上がっている。一方、これらのゲノム研究基盤は主に UK Bio-Bank をはじめとしたヨーロッパ人種の大規模ゲノムコホートデータであり、日本をはじめアジア人種のゲノムデータは不足している。本研究は、第 1 章で、GWAS や MR 法の理論的背景をわかりやすく解説されており、日本人における BMI とインスリン抵抗性、2 型糖尿病との因果関係を検証した貴重なデータを提供した。特に PRS を用いた解析では約 88 万か所の SNV から算出されており、相当な計算労力を要したことがうかがわれた。研究 1 については、国際ジャーナルに掲載が確定しており、研究 3 についても今後、投稿予定とのことで、さらなる研究活動が期待される。

【審査時の質問と指摘事項】

審査時の主な質問及び指摘事項と対応は以下の通りであった。

まず、方法論について、研究 1 では 2 型糖尿病のほかにも高血圧などの病歴も除外しているため、TMCS の 3 分の 1 程度の解析対象者となっており、スーパーノーマルな集団の解析となった。その結果、 GRS_{BMI} が低いほど HbA1c が高いなど予想外の結果も得られているが、なぜ解析対象を全く病気のいない集団に限定したのか、という質問がなされた。これに対し、研究 1 では、BMI とインスリン抵抗性の因果関係を検証するため、高血圧や心臓病などインスリン抵抗性が発症に関連していると考えられる病的状態を除外したとの回答があった。

研究 3 で用いた PRS_{BMI} は BBJ の 88 万 SNV からどのような閾値を用いて算出したかという質問については、公開されている PRS_{BMI} の計算アルゴリズムをそのまま用いていることが確認された。

結果の解釈について、 PRS_{BMI} は 2 型糖尿病との関連は示されなかったが、BMI-diff が 2 型糖尿病リスクと関連したという結果を示し、個別化リスクに基づく介入の必要性を唱えている

が、観測された BMI そのものよりも BMI-diff のほうが 2 型糖尿病のリスクをより反映していることを示す解析は行ったかとの指摘があり、本研究では PRS_{BMI} と 2 型糖尿病との因果関係の検証が目的であり、そこまでの解析は行われていない旨、回答があった。また、BMI-diff の算出について、PRS_{BMI} から点推定で BMI を予測すると誤差が大きくなるため、予測の幅をもったモデルでの解析は行ったかという質問に対しては、今回は点推定値のみのモデルであることが回答された。また、PRS_{BMI} と 2 型糖尿病の発症リスクを検証するモデルにおける調整変数については、最初の 10 個の主成分得点を含めるのは一般的な慣習であることが説明されたが、収縮期血圧値のみでなく、拡張期血圧値や降圧薬の内服なども含めるべきだとの指摘がなされた。

今回、痩せている方が遺伝的に 2 型糖尿病になりやすいという意外な結果が得られたが、この結果をプレス発表などを通じて、どのように社会に発信すれば良いか、という質問がなされた。これに対し、MR 法の不確実性を踏まえて社会に伝えたいという旨の説明がなされた。

研究の背景として、近年では MR や傾向スコア解析など、ランダム化試験を模す解析が盛んになっているが、これらの手法がどの程度、正確に因果関係を検証することができるか？また、さまざまな疾患ガイドラインに臨床試験のエビデンスと同じように MR の結果も取り入れられるようになってきているが、MR の結果から因果関係が証明されたとして積極的にガイドラインに取り入れることをどう思うかとの質問がなされた。これに対しては、現状では MR の結果は GWAS の結果によっても大きく左右されてしまい、まだ発展途上の手法と考えられるが、實際上、臨床試験の実施が難しい疾患や病態に対しては MR のエビデンスも有用ではないかという回答がなされた。

本研究は、横断研究であり、BMI の増加と 2 型糖尿病の発症が関連したという記載がみられるが、増加ではなく高値とする方が適切であるという指摘がなされた。また、ゲノム指標以外の調整変数について、測定方法をより具体的に表記するべきであるとの指摘がなされた。BMI は本研究の主題となる変数であるが、実際にどのように測定されているか、身体活動もどのように測定されたかなどの追記が望まれるとの指摘があった。

最後に、本研究において、多大な労力をかけて大規模ゲノムデータを解析してみても、全体としてあまりクリアカットな結果が示されていないが、それは他のゲノム研究でも同様であり、ゲノム多型が疾患発症に決定的に重要であるというエビデンスはまだない。データ解析を行う過程で、どのように感じたかについて問われ、PRS は元となる GAWAS データによっても結果が大きく左右されることがわかり、世界的にゲノム研究は進んでいるものの、個別化リスク診断が実用化されるまでにはまだ時間がかかることを実感したとの回答があった。

【審査結果】

本学位論文は、上記の指摘事項はあったものの、大規模ゲノムデータ、コホートデータを地道に解析し、クリアカットではないにしろ、日本人における BMI と 2 型糖尿病の因果関係について線形及び非線形 MR 法を用いて一定の見解を示し、国際ジャーナルにもアクセプトされるという成果を上げている点は高く評価できる。審査担当者は全員一致して、本学位論文をもって石田典之君に博士（公衆衛生学）の学位を授与することが適当であると判断した。

