

糖尿病性腎症における疾患関連遺伝子研究の現状

東京女子医科大学医学部内科学 (第三) (主任: 岩本安彦教授)

タナカ ノブエ ババゾン テツヤ イワモト ヤスヒコ
田中 伸枝・馬場園哲也・岩本 安彦

(受理 平成23年1月6日)

Genetic Predisposition to Diabetic Nephropathy

Nobue TANAKA, Tetsuya BABAZONO and Yasuhiko IWAMOTO

Department of Medicine III, Tokyo Women's Medical University School of Medicine

Diabetic nephropathy is the most frequent cause of end-stage renal disease. Some epidemiological studies have shown that both environmental and genetic factors lead to the progression of diabetic nephropathy. In particular, the evidence of a familial clustering of nephropathy in siblings with diabetes suggests the important role of genetic susceptibility in the pathogenesis of diabetic nephropathy.

A frequent method in genetic research is a case-control analysis using the candidate gene approach, a number of studies using this approach have assessed the predictable genes for diabetic nephropathy. Meanwhile, a whole genome linkage analysis requires great effort and costs, only a few studies of those have been performed.

As a result of the development of the genotyping technique, a genome-wide association study (GWAS) has become available recently. The GWAS identified several susceptibility genes for diabetic nephropathy; single nucleotide polymorphisms of the solute carrier family 12 (sodium-chloride cotransporter) member 3 (*SLC12A3*), engulfment and cell motility 1 (*ELMO1*), neurocalcin delta (*NCALD*) and acetyl-coenzyme A carboxylase beta (*ACACB*) were all found to be strongly associated with diabetic nephropathy.

This suggests that the identification of genetic predisposition for diabetic nephropathy be an important factor in improving current therapies for diabetic patients.

Key Words: diabetic nephropathy, end-stage renal disease, genetic susceptibility, single nucleotide polymorphism, genome-wide association study

はじめに

糖尿病性腎症は糖尿病3大合併症の1つであり、糖尿病患者の増加に伴い腎症合併患者も増加の一途をたどっている^{1)~3)}。欧米のみならずわが国においても、糖尿病性腎症は透析導入患者の原疾患として第1位を占めていることから²⁾³⁾、その予防および治療は糖尿病診療において大変重要な課題である。

糖尿病性腎症の発症機序に関し、これまでの大規模コホート研究あるいは介入試験の結果から、血糖や血圧などの環境因子が腎症の発症あるいは進展に大きく影響していることは明らかである^{4)~8)}。その一方で、罹病期間と腎症発症率との解離や家族集積性などの疫学研究により^{9)~11)}、腎症発症に対する何ら

かの遺伝因子の関与が示唆されている。本稿では、糖尿病性腎症に対する遺伝因子研究の現状を概説する。

1. 糖尿病性腎症に関する疫学研究

1型糖尿病患者における腎症と網膜症の累積発症率を検討したKrolewskiらの報告⁹⁾によると、罹病期間により発症率が直線的に増加する網膜症に対し、腎症の累積発症率は糖尿病診断後約20年でピークとなり、それ以後は増加しない。このことから、腎症の発症には罹病期間以外の因子が関与しているのではないかと想定されている。また、腎症の発症には家族集積性があることも知られている。Quinnらは、同胞間で糖尿病を罹患している場合、どちらか

Table 1 Methods to identify genetic susceptibility to common diseases

1. Candidate gene approach (Functional cloning)
Case-control analysis
Transmission/disequilibrium test (TDT)
2. Linkage analysis (Positional cloning)
Affected/discordant sib-pair linkage analysis
3. Systematic association study
Genome-wide association study (GWAS)

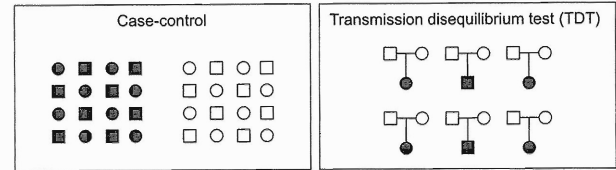
一方が糖尿病性腎症を発症している患者において、他方の腎症発症率が、腎症を発症している同胞がいない患者と比較して高くなったとしている。このような家族内集積性により、糖尿病性腎症の発症には遺伝因子が影響している可能性が示唆されている¹¹⁾。

2. 糖尿病性腎症疾患関連遺伝子の同定法

疾患関連遺伝子の同定には様々な方法が用いられている (Table 1)。目的とする遺伝子多型を直接解析する候補遺伝子解析 (candidate gene approach) は、疾患関連遺伝子を検索する上でこれまで最も頻用されていた手法である。既に、基礎実験や臨床研究により疾患との関連が明らかになっている遺伝子を対象としており、疾患群・対照群を用いたケース・コントロール解析 (case control study) と罹患者およびその親を用いた伝達不平衡テスト (transmission disequilibrium test : TDT) がある (Fig. 1-1)。比較的簡便に行える方法であるが、疾病の機序としてこれまで明らかにされた生物学的研究成果の範囲内に留まるため、未知の因子を同定するには至らない。一方、連鎖解析 (linkage analysis) のポジショナルクローニング (positional cloning) は、罹患者同胞 (affected sib-pair) あるいは非罹患者同胞 (discordant sib-pair) とその親を対象とし、全ゲノムに分布する多型を検索することにより、疾患関連遺伝子を検索する方法である (Fig. 1-2)。この連鎖解析や体系的アソシエーション研究 (systemic association study) である全ゲノムスキャン (genome-wide association study) は膨大な労力と費用を要するため容易には行えず、研究報告はごく僅かに限られている。

さらに、遺伝子研究を進める上で念頭に置くべきことは、糖尿病や糖尿病性腎症などの common disease には、遺伝因子のみならず環境因子の関与も大きいということであり、特定の遺伝子を同定するのはさらに困難である。また、疾患の進展には単一の遺伝子だけでなく、複数の遺伝因子が複雑に関連していることが予想され、その解析は困難であること

1. Functional cloning



2. Positional cloning

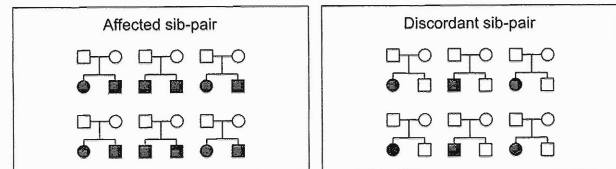


Fig. 1 The methods of statistical analysis and choices of the subjects in order to assess susceptibility genes for common diseases

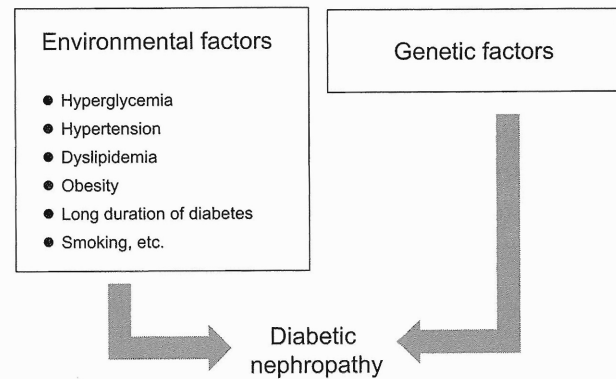


Fig. 2 The environmental and genetic factors associated with the progression of diabetic nephropathy

から今日まで明確な遺伝因子の同定には至っていない (Fig. 2)。

1) 候補遺伝子解析

(1) ケース・コントロール研究

候補遺伝子解析においては、ケース・コントロール研究が最も多く行われている統計学的手法である。現在までに糖尿病性腎症との有意な関連が報告された候補遺伝子として、アポリポ蛋白 E (apolipoprotein : Apo E) 遺伝子¹²⁾、アルドース還元酵素 (aldose reductase : ALR) 遺伝子¹³⁾、アンジオテンシン変換酵素 (angiotensin-I converting enzyme : ACE) 遺伝子^{14)~17)}、アンジオテンシノーゲン (angiotensinogen : AGT) 遺伝子¹⁸⁾¹⁹⁾、アンジオテンシン II 受容体 (angiotensin II type I receptor : AT1R) 遺伝子、などがある (Table 2)^{12)~22)}。特に ACE 遺伝子の insertion/deletion (I/D) 多型は、ケース・コントロール解析で最も多く報告されている多型である。しかし

Table 2 Representative candidate genes for diabetic nephropathy

	Genes
Lipid metabolism	Apolipoprotein E (Apo E)
Cytokine signals	Protein kinase C-beta (PKC-β) Transforming growth factor-beta (TGF-β)
Renin-angiotensin system	Angiotensin-I converting enzyme (ACE) Angiotensinogen Angiotensin II type I receptor Angiotensin
Others	Aldose reductase Superoxide dismutase (SOD)

ながら、これらの結果は様々であり、一致した見解にはまだ至っていない^{14)~17)}。

ケース・コントロールを用いた候補遺伝子解析は、症例収集によるサンプリングバイアスや論文掲載の採用・不採用によるパブリケーションバイアスなどの影響を受けやすく、疑陽性または疑陰性を導きやすい。解析症例数を増やすことにより、これらのバイアスのある程度回避することは可能であるが、数多くの症例を集めることも遺伝子研究においてはまた容易ではなく、いずれにせよ、これらの研究には多大な労力が要求されるのが現状である。

2) 伝達不平衡テスト

統計学的手法が困難であるため、頻用されている方法ではないが、伝達不平衡テスト (transmission disequilibrium test : TDT) は、特定の遺伝子を解析するもう 1 つの方法である。これは、罹患していない両親と発端者である子供の遺伝子伝達頻度を比べることにより、疾患との関連を検討する方法である。Araki らは、この手法を用いて ApoE 遺伝子多型と糖尿病性腎症との関連性について報告している²³⁾。

3) ゲノムワイド解析

(1) 罹患同胞対を用いた連鎖解析(linkage analysis)

マイクロサテライトマーカーを用いた全ゲノムスクランは多大な労力と費用を要し、解析が容易でないため、現在までごくわずかの報告に限られている。Pima Indian は他の人種に比べ 2 型糖尿病の発症率が高いことが知られているが、Imperatore らは、Pima Indian 59 家系において 503 のマイクロサテライトマーカーを用い、糖尿病と網膜症や腎症との関連を解析している。その結果、第 3、第 7 および第 20 染色体に腎症に対して疾患感受性を示す領域を認めたとしている²⁴⁾。

また、Moczulski らは discordant sib-pair を用いた sib-TDT により糖尿病性腎症と関連のある遺伝因

子を検討している。第 3 染色体長腕の約 20 cM の領域に強い疾患感受性を示したとしているが (maximum LOD=3.1)²⁵⁾、その領域には、腎症の疾患関連遺伝子の候補遺伝子の 1 つであるアンジオテンシン II 受容体 (AT1R) 遺伝子が含まれており、興味深い結果の 1 つである。

さらに、近年糖尿病家系と非糖尿病家系における尿中アルブミン値との関連を検討した連鎖解析が報告された。第 5 (LOD=3.4)、第 7 (LOD=3.1)、第 22 (LOD=3.7) 染色体に強い疾患感受性を示す領域が認められ、糖尿病性腎症発症の新たな候補領域として報告された²⁶⁾。

しかしながら、このような連鎖解析から導かれる結果は、通常ゲノム上の膨大な範囲を示すことが多く、無数の既知および未知遺伝子が含まれている。その多数の遺伝子の中から特定の遺伝子を疾患関連遺伝子として同定することは大変困難であり、今日までごくわずかの報告に限られている。

(2) Genome-wide association study (GWAS)

既に全ゲノム配列の解読はほぼ終了し、これらの情報をもとに、既知遺伝子以外の未知遺伝子との疾患関連性を検討することも可能となってきている。また、遺伝子多型には、マイクロサテライトや VNTR などのミニサテライト、また insertion/deletion などが知られているが、近年一塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) が遺伝子多型として頻用されている。SNP はヒトゲノム上最も高頻度に存在する多型であり、疾患関連遺伝子検索のマーカーとして使用されはじめて久しい。一方、シーケンスの技術的進歩や新しいタイピング法の開発により、短時間で大量の解析が行えるようになった。

このような解析技術の進歩に伴い、遺伝子多型の網羅的解析、genome-wide association study (GWAS) が可能となり、近年様々な疾患関連遺伝子が同定さ

Table 3 Susceptibility genes to diabetic nephropathy which were identified by GWAS in Japan

Gene name	Gene product
<i>SLC12A3</i>	Thiazide-sensitive sodium-chloride co-transporter
<i>ELMO1</i>	Engulfment and cell motility 1
<i>NCALD</i>	Neurocalcin δ
<i>ACACB</i>	Acetyl-coenzyme A carboxylase β
<i>KCNQ1</i>	Potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily member 1

Solute Carrier Family 12 (sodium/chloride) member 3, Thiazide-sensitive sodium-chloride co-transporter (*SLC12A3*)²¹, Engulfment and cell motility 1 (*ELMO1*)²², Neurocalcin delta (*NCALD*)²³, Acetyl-coenzyme A carboxylase beta (*ACACB*)²⁴, *KCNQ1* (potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily member 1) was found to be one of the new candidate genes for type 2 diabetes by another cohort of GWAS. The association of diabetic nephropathy with *KCNQ1* gene was identified by a case-control analysis.

れている²⁷⁻³²。我が国においては、2000年に発足したミレニアム・ゲノム・プロジェクトの一環として、いくつかの疾患について検討が行われており、糖尿病性腎症疾患関連遺伝子についても検索が行われた。糖尿病性腎症のケースおよびコントロール各94症例を1次スクリーニングとして約8万SNPの解析が行われ、既知および新規を含め多くの候補遺伝子が同定された。その後の解析の結果、solute carrier family 12 (sodium/chloride) member 3, thiazide-sensitive sodium-chloride co-transporter (*SLC12A3*)²⁰, engulfment and cell motility 1 (*ELMO1*)³⁰, neurocalcin delta (*NCALD*)³¹および acetyl-coenzyme A carboxylase beta (*ACACB*)³² 遺伝子が、これまでに新規糖尿病性腎症関連遺伝子として報告されている (Table 3)。また、2型糖尿患者を対象としたGWASにより明らかにされた2型糖尿病関連遺伝子の1つである *KCNQ1* (potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily member 1, K電位依存性チャネル) が、その後のケース・コントロール解析により糖尿病性腎症に対して関連する遺伝子としても報告された³³。

3. 我が国における genome-wide association study (GWAS) 研究により明らかにされた糖尿病性腎症疾患関連候補遺伝子

1) *SLC12A3*

SLC12A3 遺伝子は、腎遠位尿細管に特異的に発現するサイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体の遺伝子であり、その変異は Gitelman 症候群としても知られている³⁴。この遺伝子のアミノ酸置換を伴う SNP (exon23 + 78, Arg913Gln) は、糖尿病性腎症症例において有意にその頻度が少なかったことから ($\chi^2 = 18.5$, $p = 0.00002$, odds ratio 2.53, 95% 信頼区間: CI 1.64-3.90), この多型が腎症の発症に対し防御的に働

くのではないかと推察されている。また、血圧が腎症の進行にかかわっていることは臨床的に以前より知られており、降圧利尿剤に感受性を示すこの共輸送体遺伝子と腎症との関わりに関しては、興味を持たれるところである。

2) *ELMO1*

ELMO1 遺伝子は、線虫のアポトーシスに関わる *ced-12* の哺乳類相同体として同定された遺伝子であるが、その機能に関してはあまり報告されていない。Shimazaki らは、*ELMO1* 遺伝子のイントロンに存在する SNP (intron 18 + 9170) が糖尿病性腎症と強い関連を認めたとしている ($\chi^2 = 19.9$, $p = 0.000008$, odds ratio 2.67, 95% CI 1.71-4.16)³⁰。この遺伝子多型に関しては、その後欧米人を対象とした他の報告においても腎症との関わりが確認されており^{35,36}、糖尿病性腎症の有効な候補遺伝子と考えられている。また、*ELMO1* 遺伝子は腎では糸球体上皮細胞にも発現が認められていることから、今後さらなる検討により腎症との機能的関わりが証明されることが期待される。

3) *NCALD*

神経カルシウムセンサー (NCS) ファミリーの一つである neurocalcin delta (*NCALD*) は、ヒト胎児の脳からクローニングされた遺伝子であり、神経 (ニューロン) 細胞や網膜光受容体における発現が報告されている。最近、一連の GWAS の結果として、第4エクソン内の3つの SNP (exon 4 + 999 T/A, + 1307 A/G, rs1131863: 1340 A/G) と腎症との関連が報告された (rs1131863: exon 4 + 1340 A vs G, $p = 0.00004$, odds ratio 1.59, 95% CI 1.27-1.98)³¹。また、腎培養細胞において *NCALD* の発現が確認され、これらの SNPs のハプロタイプにより *NCALD* の遺

伝子発現が有意に低下することが見出された。さらに、8年間観察し得たコホートを用いて、Landmark SNPs との関連を再検討したところ、腎症の進展との有意な関連が認められた (A vs G, $p=0.03$, odds ratio 1.91, 95%CI 1.07-3.42)。これらのことなどから、NCALDは有力な腎症関連遺伝子と考えられている。

4) ACACB

第12染色体q24に位置するacetyl-coenzyme A carboxylase beta (ACACB)の遺伝子産物は、acetyl-CoAからmalonyl-CoAへ代謝するカルボキシラーゼである。タンパク尿を有する糖尿病患者においてコントロール群比較し、イントロン18内のSNPが有意な関連を認めたとしている(rs2268388: intron 18+4139 C>T, $p=1.4 \times 10^{-6}$, odds ratio 1.61, 95%CI 1.33-1.96)³²⁾。ヒトにおける発現は、脂肪細胞、心筋および骨格筋に加え、尿細管上皮培養細胞においても確認されている。さらにこの遺伝子に関しては、日本人のみならず、他のアジア諸国やヨーロッパの様々な人種にわたる検討が行われ、加えて、1型糖尿病症例も対象集団として用いられている。その結果、1型においては腎症との関わりが認められず、また、末期腎不全との有意な関連を認めなかったことから、2型糖尿病の比較的早期の腎症に関連した疾患関連遺伝子である可能性が示唆されている³²⁾。

5) KCNQ1

その遺伝子座が第11染色体p15.5に位置するKCNQ1は、心筋、内耳、腸管、肝および腎に発現するKチャンネルの1つである。腎においては、近位尿細管に位置し、K濃度を調整することにより、Naの再吸収に関与しているとされている。KCNQ1は、本邦のゲノムワイド研究より明らかにされた2型糖尿病関連遺伝子の1つであり³⁷⁾³⁸⁾、その後、糖尿病性腎症を有する症例を用いた解析においても、その関連性が明らかにされた。複数の集団において解析が繰り返されたが、rs223789のTアレルがいずれの症例群においても腎症患者で頻度が高かった(0.33対0.27, 追加症例①: 0.32対0.30, ②: 0.33対0.28, ③: 0.32対0.28)。メタ解析においては、odds ratio 1.22, 95%CI 1.10-1.34, 補正p値0.01と、rs2237897のTアレルと2型糖尿病患者の腎症との間に有意な関連を認め、糖尿病性腎症との関連が示唆された³⁷⁾。

おわりに

糖尿病性腎症の患者の増加により、新たな予防法や治療法の開発は、臨床のみならず医療経済の面からも重要である。腎症の発症および進展に何らかの

遺伝因子が関わっているとされており、遺伝子多型の網羅的解析が可能となった今、今後より多くの疾患関連遺伝子の同定により、疾患予知マーカーや新たな治療薬が開発され、糖尿病性腎症の治療に活用されることを期待したい。

文 献

- 1) Whaley-Connell AT, Sowers JR, McFarlane SI et al: **Kidney Early Evaluation Program Investigators: Diabetes mellitus in CKD: Kidney Early Evaluation Program (KEEP) and National Health and Nutrition and Examination Survey (NHANES) 1999-2004.** Am J Kidney Dis **51**(Suppl 2): S21-S29, 2008
- 2) US Renal Data System: Excerpts from the United State Renal Data System 2009 Annual Data Report: Atlas of chronic kidney disease & end-stage renal disease in the United States. Am J Kidney Dis **55** (Suppl 1): S1-S420, 2010
- 3) 「わが国の慢性透析療法の現況—2009年12月31日現在」, 日本透析医学会 (2010)
- 4) Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D et al: **RENAAL Study Investigators: Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy.** N Engl J Med **345**: 861-869, 2001
- 5) Wilmer WA, Hebert LA, Lewis EJ et al: Remission of nephrotic syndrome in type 1 diabetes: long-term follow-up of patients in the Captopril Study. Am J Kidney Dis **34**: 308-314, 1999
- 6) **UK prospective diabetes study group: Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38.** BMJ **317**: 703-713, 1998
- 7) **The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependant diabetes mellitus.** N Engl J Med **329**: 977-986, 1993
- 8) **The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology Research Group: Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after a trial of intensive therapy.** N Engl J Med **342**: 381-389, 2000
- 9) Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK et al: Diabetic nephropathy in Type 1 (insulin-dependent) diabetes: an epidemiological study. Diabetologia **25**: 496-501, 1983
- 10) Krolewski AS, Warram JH, Christlieb AR et al: The changing natural history of nephropathy in type I diabetes. Am J Med **78**: 785-794, 1985
- 11) Quinn M, Angelico MC, Warram JH et al: Familial factors determine the development of diabetic nephropathy in patients with IDDM. Diabetologia **39**: 940-945, 1996
- 12) Leiva E, Mujica V, Elematore I et al: Relationship between Apolipoprotein E polymorphism and nephropathy in type-2 diabetic patients. Diabetes Res Clin Pract **78**: 196-201, 2007
- 13) Lajer M, Tarnow L, Fleckner J et al: Association

- of aldose reductase gene Z+2 polymorphism with reduced susceptibility to diabetic nephropathy in Caucasian Type 1 diabetic patients. *Diabet Med* **21**: 867–873, 2004
- 14) **Marre M, Bernadet P, Gallois Y et al**: Relationships between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic retinal and renal complications. *Diabetes* **43**: 384–388, 1994
 - 15) **Parving HH, Jacobsen P, Tarnow L et al**: Effect of deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene on progression of diabetic nephropathy during inhibition of angiotensin converting enzyme: observational follow up study. *BMJ* **313**: 591–594, 1996
 - 16) **Sakka Y, Babazono T, Sato A et al**: ACE gene polymorphism, left ventricular geometry, and mortality in diabetic patients with end-stage renal disease. *Diabetes Res Clin Pract* **64**: 41–49, 2004
 - 17) **Tomino Y, Makita Y, Shiike T et al**: Relationship between polymorphism in the angiotensinogen, angiotensin-converting enzyme or angiotensin II receptor and renal progression in Japanese NIDDM patients. *Nephron* **82**: 139–144, 1999
 - 18) **Campbell CY, Fang BF, Guo X et al**: Associations between genetic variants in the ACE, AGT, AGTR 1 and AGTR 2 genes and renal function in the Multi-ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Nephrol* **32**: 156–162, 2010
 - 19) **Osawa N, Koya D, Araki S et al**: Combinational effect of genes for the renin-angiotensin system in conferring susceptibility to diabetic nephropathy. *J Hum Genet* **52**: 143–151, 2007
 - 20) **Araki S, Haneda M, Sugimoto T et al**: Polymorphisms of the protein kinase C-beta gene (PRKCB1) accelerate kidney disease in type 2 diabetes without overt proteinuria. *Diabetes Care* **29**: 864–868, 2006
 - 21) **Wong TY, Poon P, Chow KM et al**: Association of transforming growth factor-beta (TGF-beta) T869C (Leu 10Pro) gene polymorphisms with type 2 diabetic nephropathy in Chinese. *Kidney Int* **63**: 1831–1835, 2003
 - 22) **Lee SJ, Choi MG, Kim DS et al**: Manganese superoxide dismutase gene polymorphism (V16A) is associated with stages of albuminuria in Korean type 2 diabetic patients. *Metabolism* **55**: 1–7, 2006
 - 23) **Araki S, Moczulski DK, Hanna L et al**: APOE polymorphisms and the development of diabetic nephropathy in type 1 diabetes: results of case-control and family-based studies. *Diabetes* **49**: 2190–2195, 2000
 - 24) **Imperatore G, Hanson RL, Pettitt DJ et al**: Sib-pair linkage analysis for susceptibility genes for microvascular complications among Pima Indians with type 2 diabetes. *Diabetes* **47**: 821–830, 1998
 - 25) **Moczulski DK, Rogus JJ, Antonellis A et al**: Major susceptibility locus for diabetic nephropathy in type 1 diabetes on chromosome 3q: Results of novel discordant sib-pair analysis. *Diabetes* **47**: 1164–1169, 1998
 - 26) **Krolewski AS, Poznik GD, Placha G et al**: A genome-wide linkage scan for genes controlling variation in urinary albumin excretion in type II diabetes. *Kidney Int* **69**: 129–136, 2006
 - 27) **Mein CA, Barratt BJ, Dunn MG et al**: Evaluation of single nucleotide polymorphism typing with invader on PCR amplicons and its automation. *Genome Res* **10**: 330–343, 2000
 - 28) **Ohnishi Y, Tanaka T, Yamada R et al**: Identification of 187 single nucleotide polymorphisms (SNPs) among 41 candidate genes for ischemic heart disease in the Japanese population. *J Hum Genet* **106**: 288–292, 2000
 - 29) **Tanaka N, Babazono T, Saito S et al**: Association of solute carrier family 12 (sodium/chloride) member 3 with diabetic nephropathy, identified by genome-wide analyses of single nucleotide polymorphisms. *Diabetes* **52**: 2848–2853, 2003
 - 30) **Shimazaki A, Kawamura Y, Kanazawa A et al**: Genetic variations in the gene encoding ELMO1 are associated with susceptibility to diabetic nephropathy. *Diabetes* **54**: 1171–1178, 2005
 - 31) **Kamiyama M, Kobayashi M, Araki S et al**: Polymorphisms in the 3'UTR in the neurocalcin delta gene affect mRNA stability, and confer susceptibility to diabetic nephropathy. *Hum Genet* **122**: 397–407, 2007
 - 32) **Maeda S, Kobayashi MA, Araki S et al**: A single nucleotide polymorphism within the acetyl-coenzyme A carboxylase beta gene is associated with proteinuria in patients with type 2 diabetes. *PLoS Genet* **6**: e1000842, 2010
 - 33) **Ohshige T, Tanaka Y, Araki S et al**: A single nucleotide polymorphism in KCNQ1 is associated with susceptibility to diabetic nephropathy in Japanese subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* **33**: 842–846, 2010
 - 34) **Simon DB, Nelson-Williams C, Johnson-Bia M et al**: Gitelman's variant of Batters syndrome, inherited hypokalaemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nat Genet* **12**: 24–30, 1996
 - 35) **Leak TS, Perlegas PS, Smith SG et al**: Variants in intron 13 of the ELMO1 gene are associated with diabetic nephropathy in African Americans. *Ann Hum Genet* **73**: 152–159, 2009
 - 36) **Pezzolesi MG, Katavetin P, Kure M et al**: Confirmation of genetic associations at ELMO1 in the GoKinD collection supports its role as a susceptibility gene in diabetic nephropathy. *Diabetes* **58**: 2698–2702, 2009
 - 37) **Unoki H, Takahashi A, Kawaguchi T et al**: SNPs in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes in East Asian and European populations. *Nat Genet* **40**: 1098–1102, 2008
 - 38) **Yasuda K, Miyake K, Horikawa Y et al**: Variants in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* **40**: 1092–1097, 2008