

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01686

研究課題名(和文) 小児肥満におけるFTO遺伝子多型と肥満形成速度の関連解析

研究課題名(英文) The relationships between the genetic polymorphisms of FTO gene and childhood obesity

研究代表者

中島 久和 (Nakajima, Hisakazu)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：80363985

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：小児肥満とFTO遺伝子の遺伝子多型の関連について調査を行った。研究対象は小児肥満46人、正常対照の小児165人を解析した。小児肥満の年齢・性比は11.3歳・男性31人：女性15人、正常対照は13.7歳・男性84：女性81人であった。FTO rs9939609 (T/A)については、Aアレル(マイナーアレル)を持つことが小児肥満の出現に対する遺伝的な危険因子である可能性が示唆された(オッズ比 4.76; 95%信頼区間 1.96-11.1; $p=0.001$)。rs7206970(C/G), rs11644943(T/A)についても検討したが、遺伝学的な危険因子とは言えなかった。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether the SNPs of FTO gene could contribute to childhood obesity, its comorbidities and its milestone with early-onset among Japanese school-aged population. We identified that the A allele of FTO rs9939609 (T/A) contributed to a high odds ratio for the population with childhood obesity(Odds ratio 4.76; 95% CI1.96-11.1, $p=0.008$). However, the A allele of FTO rs9939609 did not influence the phenotype and comorbidities including BMI, BMI-Z score, the percentage of overweight, fasted blood glucose, fasted insulin, HOMA-R, serum parameters of lipid metabolism. There was no relationships between FTO rs7206970(C/G) and childhood obesity as well as its complications. FTO rs11644943(T/A) did not influence childhood obesity and its comorbidities.

研究分野：内分泌学

キーワード：小児肥満 FTO遺伝子 遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

Fat Mass and Obesity 遺伝子(*FTO*)の遺伝子多型(SNPs)はGWAS (Genome-Wide Association Study) の解析結果から肥満や2型糖尿病との強い相関性が検出された遺伝子の一つである (Frayling TM, *et al.* Science 2007 ; Cecil JE, *et al.* NEJM 2008; Church C, *et al.* Nat Genet 2010)。*FTO* 遺伝子の生体での機能はいまだ完全に解明されていないが、ヒトを含むほ乳動物の組織にユビキタスに存在する脱メチル化酵素である (Gerken T, *et al.* Science 2007)。近年の基礎研究の成果として、脳組織、とくに視床下部の弓状核に *FTO* タンパクが豊富に発現し、脳における栄養状態を感知するセンサーとして機能している可能性が指摘された (Tung YC, *et al.* PLoS ONE 2010)。このような先行研究の結果から、ヒトの食行動習慣(食欲の湧き方、空腹に対する感覚、空腹に対する耐容性、など)と *FTO* 遺伝子や *FTO* と相互作用する遺伝子 (*IRX3* や *TMEM18*) の関連について臨床研究を進めることは、肥満治療や肥満リスク群への早期介入にとっては有意義な研究になることが予想される(Kakina I, *et al.* Gene 2013; Smemo S, *et al.* Nature 2014)。

2. 研究の目的

FTO の遺伝子多型 (SNPs) が小児肥満の遺伝学的な危険因子であるかどうかを判別する。また、*FTO* の遺伝子多型肥満の合併症やその表現型 (フェノタイプ) と関連するかを検討する。また、小児肥満として早期に肥満を形成するかどうかや食行動について関連するか、検討する。

3. 研究の方法

- (1) 研究対象のリクルート
京都府立医科大学附属病院および京都府立医科大学附属北部医療センター、京都府下の健康診断で血液検査を導入している中学校で研究対象者を募集した。リクルートできた小児肥満 46 名、正常小児 (中学生) 165 名について解析した。研究のエントリーについては書面で説明と同意を取得した。なお、本研究については京都府立医科大学研究倫理審査委員会で承認を受けて行った。
- (2) 研究対象者について、身長、体重を測定した肥満度、BMI および BMI-Z スコアを算出した。
- (3) 同意を得た研究対象者について、DNA 抽出用の血液 3-4cc を静脈穿刺にて採取した。その血液からテンプレート DNA を作成し、-80°C で保存した。また血清を分離しホルモン測定まで-30°C で保存した。
- (4) 同様に、空腹時血糖、空腹時インスリン (ELISA 法)、HbA1c (HPLC 法)、血清総コレステロール、LDL コレステロール(LDL-C)、HDL コレステロール(HDL-C)、血清中性脂肪 (TG)を測定した。
- (5) *FTO* 遺伝子の遺伝子多型 (SNPs) の解析: TaqMan probe を用いた TaqMan Genotyping

Assay システム (サーモサイエンティフィック社) を用いて、リアルタイム PCR 法でジェノタイプを決定した。解析を予定した *FTO* の SNPs は次のものである。*FTO* rs9939609, rs7206790, rs11644943, rs1421085, rs17817449, rs8043757、これらについて TaqMan プローベを作成し、個々の研究対象者についてジェノタイプを決定した。

(6) χ^2 検定 (オッズ比の算出)、マン・ホイットニー-U 検定、*t* 検定、Spearman の順位相関係数分析と行った統計解析には SPSS Statistics V23.0 for Windows (IBM 社) を使用した。

4. 研究成果

(1)研究対象者のプロフィール

項目	全数	非肥満	肥満	P値
n	211	165	46	
性別(男性/女性)	115/96	84/81	31/15	0.05
年齢(歳)	13.2 ± 1.8	13.7 ± 0.9	11.3 ± 2.9	<0.001
肥満度 (%)	8.6 ± 24.2	-2.7 ± 10.6	48.8 ± 14.0	<0.001
BMI Zスコア (SD)	0.2 ± 1.3	-0.4 ± 0.9	2.2 ± 0.5	<0.001
総コレステロール (mg/dL)	171.1 ± 29.1	168.3 ± 27.2	181.2 ± 33.6	0.05
LDL-C (mg/dL)	93.1 ± 25.8	88.4 ± 21.9	110.0 ± 31.4	<0.001
HDL-C (mg/dL)	63.9 ± 14.2	67.1 ± 12.8	52.6 ± 13.1	<0.001
中性脂肪 TG (mg/dL)	104.6 ± 65.8	96.5 ± 59.3	133.6 ± 79.2	0.002
FPG (mg/dL)	88.2 ± 10.7	85.9 ± 9.0	96.2 ± 12.4	<0.001
FINS (μU/mL)	14.0 ± 24.7	8.4 ± 7.5	34.1 ± 46.0	<0.001
HOMA-IR	3.4 ± 7.6	1.8 ± 2.1	9.1 ± 14.6	<0.001
HbA1c (NGSP)	5.2 ± 0.4	5.1 ± 0.2	5.6 ± 0.6	<0.001

値は平均値±標準偏差にて表記、p値はマンホイットニー-U 検定で算出した。

(2)小児肥満に対するオッズ比(Odds ratio, OR)の検討

- ・ *FTO* rs9939609 (T/A) については、A アレルをもつ集団 (ジェノタイプは AA+TA) で OR 4.76 (95%信頼区間 1.96~11.11; p= 0.001)の結果であった。
- ・ *FTO* rs7206790 (C/G)については、G アレルをもつ集団 (ジェノタイプは CG+GG) で OR 1.21 (95%信頼区間 0.57~2.60; p=0.70)であった。
- ・ *FTO* rs11644943 (T/A) については、A アレルをもつ集団 (ジェノタイプは AA+AT) において OR 13.7 (95%信頼区間 2.94~63.3; p< 0.0001)の結果であった。

(3)小児肥満の表現型に及ぼす影響および正常対照に及ぼす影響

- ・ *FTO* rs9939609 (T/A) が小児肥満・非肥満の表現型に及ぼす影響

小児肥満	<i>FTO</i> rs9939609		p値
	T/T	A/T, A/A	
n	27	19	
性別(男性/女性)	19/8	12/7	0.61
年齢(歳)	11.0 ± 3.0	11.9 ± 2.7	0.12
肥満度 (%)	48.8 ± 13.6	48.8 ± 15.0	0.99
BMI (kg/m ²)	26.7 ± 4.1	27.6 ± 4.6	0.46
BMI Zスコア	2.2 ± 0.5	2.2 ± 0.5	0.85
総コレステロール (mg/dL)	179.6 ± 31.7	183.5 ± 36.9	0.70
LDL-C (mg/dL)	108.2 ± 30.9	112.5 ± 32.8	0.73
HDL-C (mg/dL)	51.7 ± 14.4	53.8 ± 11.2	0.36
TG (mg/dL)	146.1 ± 88.7	115.8 ± 61.2	0.41
空腹時血糖 (mg/dL)	96.8 ± 13.3	95.3 ± 11.3	0.89
空腹時インスリン (μU/mL)	33.0 ± 48.6	35.7 ± 43.4	0.48
HOMA-IR	8.9 ± 15.7	9.3 ± 13.3	0.50
HbA1c(NGSP)	5.7 ± 0.6	5.5 ± 0.5	0.36

値は平均値±標準偏差にて表記、p値はマンホイットニー-U 検定で算出した。

非肥満	FTO rs9939609			p値
	項目	T/T	A/T, A/A	
n	133	32		
性比(男性/女性)	65/68	19/13		0.29
年齢(歳)	13.6±0.9	14.1±0.9		0.01
肥満度(%)	-2.8±10.5	-2.1±11.1		0.84
BMI (kg/m ²)	18.8±2.0	19.1±2.3		0.52
BMI Zスコア	-0.4±0.9	-0.4±1.0		0.82
総コレステロール (mg/dL)	169.3±27.1	164.3±27.7		0.37
LDL-C (mg/dL)	88.5±22.3	88.0±20.5		0.91
HDL-C (mg/dL)	67.9±12.9	63.8±12.0		0.10
TG (mg/dL)	95.4±58.2	100.8±64.7		0.98
空腹時血糖 (mg/dL)	84.8±6.5	84.7±9.7		0.40
空腹時インスリン (μU/mL)	8.4±8.0	8.0±5.1		0.62
HOMA-IR	1.9±2.3	1.7±1.0		0.75
HbA1c(NGSP)	5.2±0.2	5.1±0.2		0.27

値は平均値±標準偏差にて表記、p 値はマンホイットニーU 検定で算出した。

・FTO rs9939609 (T/A) と肥満関連パラメータの相関 (A アレル保有との相関)

項目	r	p
n = 211		
性比(男性/女性)	-0.071	0.303
年齢(歳)	0.046	0.511
肥満度(%)	0.16	0.02
BMI (kg/m ²)	0.177	0.01
BMI Zスコア	0.16	0.02
総コレステロール (mg/dL)	-0.009	0.9
LDL-C (mg/dL)	0.082	0.238
HDL-C (mg/dL)	-0.158	0.022
TG (mg/dL)	0.022	0.751
空腹時血糖 (mg/dL)	0.028	0.683
空腹時インスリン (μU/mL)	0.124	0.072
HOMA-IR	0.115	0.096
HbA1c(NGSP)	0.047	0.495

Spearman 順位相関係数分析にて解析した。

(4) 考察

・FTO SNPs が小児肥満の出現におよぼす影響について、FTO rs9939609 (T/A) の A アレルは小児肥満の出現に対する危険因子である可能性が示唆された。FTO rs7206790 (C/G) については、小児肥満との関連は少ないと考えられた。FTO rs11644943 (T/A) については、オッズ比が有意に高値を示すものであったが、信頼区間の幅が大きく、今回の検討では関連があるとは言えなかった。何れにせよ、研究対象者の数が少ないため、症例数を増やして再検討する余地がある。

・FTO が小児肥満の表現型に与える影響について検討した。FTO rs9939609 (T/A) を中心ですに言及すると、小児肥満のなかでジェノタイプ TT とジェノタイプ AT+AA に分けて検討したが、肥満度、BMI、BMI-Z スコアと行った体格に及ぼす影響は少ないと考えられた。また、同様に空腹時血糖、空腹時インスリン、血清脂質代謝に及ぼす影響も少ないと考えられた。HbA1c に及ぼす影響も少ないと考えられた。正常対照の中学生でも検討したが、有意差のある項目は観察されなかった。

・さらに、FTO rs9939609 (T/A) が肥満のパラメータと相関するかを検討したが、A アレ

ルの保有と肥満度・BMI・BMI-Z スコアとはほとんど相関関係はみられなかった。HDL-C についても相関関係はみられなかった。

(5) まとめ

FTO rs9939609 (T/A) は小児肥満の出現に影響を与える因子のひとつであることが理解された。FTO rs9939609 (T/A) は遺伝的素因として、あるいは肥満と関連して、糖代謝異常や脂質代謝異常に直接影響を与える因子とは言えないと考えられた。FTO rs7206790 (C/G) は小児肥満との関連性はほとんどないと考えられた。FTO rs11644943 (T/A) については、小児肥満との関連性が疑われたが、今回の検討は統計学的に不十分で解析数を増やして再解析する必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Morimoto H, Mori J, Nakajima H, Kawabe Y, Tsuma Y, Fukuhara S, Kodo K, Ikoma K, Matoba S, Oudit GY, Hosoi H. Angiotensin 1-7 stimulates brown adipose tissue and reduces diet-induced obesity. *Am J Physiol- Endocrinol Metab* 314, E131-138: 2018. doi: 10.1152/ajpendo.00192.2017 (査読あり)
- ② Kodo K, Sugimoto S, Nakajima H, Mori J, Itoh I, Fukuhara S, Shigehara K, Nishikawa T, Kosaka K and Hosoi H. Erythropoietin (EPO) ameliorates obesity and glucose homeostasis by promoting thermogenesis and endocrine function of classical brown adipose tissue (BAT) in diet-induced obese mice. *PLoS ONE* 12(3), e0173661: 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173661> (査読あり)
- ③ Inoue T, Nakamura A, Fuke T, Yamazawa K, Sano S, Matsubara K, Mizuno S, Matsukura Y, Harashima C, Hasegawa T, Nakajima H, Tsumura K, Kizaki Z, Oka A, Ogata T, Fukami M, Kagami M. Genetic heterogeneity of patients with suspected Silver-Russell syndrome: genome-wide copy number analysis in 82 patients without imprinting defects. *Clin Epigenet* 9, 52: 2017. doi: 0.1186/s13148-017-0350-6. (査読あり)
- ④ Yamoto K, Saitsu H, Nakagawa N, Nakajima H, Hasegawa T, Fujisawa Y, Kagami M, Fukami M, Ogata T. De novo *IGF2* mutation on the paternal allele in a patient with Silver-Russell syndrome and ectrodactyly. *Human Mutation* 38, 953-958: 2017. doi: 10.1002/humu.23253. (査読あり)

- ⑤ Sugimoto S, Nakajima H, Kosaka K, Hosoi H. Review: Miglitol has potential as a therapeutic drug against obesity. *Nutr Metab* 12, 51: 2015. (査読あり)

[学会発表] (計 14 件)

- ① Morimoto H, Mori J, Tsuma Y, Fukuhara S, Shigehara K, Kodo K, Nakajima H, Hosoi H. Ang 1-7 exerts anti-obesity effect through proliferation of BAT. The 10th International Meeting of Pediatric Endocrinology: Sep.14-17, 2017, Washington DC (USA) (国際学会)
- ② 福原正太, 中島久和, 森元英周, 幸道和樹, 茂原慶一, 杉本哲, 森潤, 小坂喜太郎, 森本昌史, 細井創. 雌性 MeCP2 ヘテロノックアウトマウスにおける高脂肪食嗜好性の病態解明. 第 51 回日本小児内分泌学会学術集会. 2017 年 9 月 28 日~30 日、大阪
- ③ 茂原慶一, 中島久和, 都間佑介, 森元英周, 福原正太, 幸道和樹, 杉本哲, 松尾憲典, 森潤, 小坂喜太郎, 細井創. オメガ 3 系多価不飽和脂肪酸 (ω 3PUFA) による副腎皮質ステロイド産生系への影響. 第 71 回日本栄養・食糧学会大会. 2017 年 5 月 19 日~21 日、宜野湾 (沖縄)
- ④ 杉本哲, 戸澤雄紀, 青井輝希, 多加喜望, 都間佑介, 福原正太, 幸道和樹, 森潤, 山本俊至, 中島久和. 高度肥満を伴う 22q13 欠失症候群の女兒例. 第 120 回日本小児科学会学術集会. 2017 年 4 月 14 日~17 日、東京
- ⑤ Nakajima H, Kodo K, Sugimoto S, Itoh I, Fukuhara S, Shigehara, K, Morimoto H, Nishikawa T, Mori J, Kosaka K, Hosoi H. Erythropoietin ameliorates obesity and glucose intolerance on high-fat dietary obese mice through the activation of erythropoietin receptor/STAT3 pathway and the up-regulation of FGF21 secretion on classical brown adipose tissue. The 9th biennial Scientific Meeting of the Asia Pacific Paediatric Endocrinology Society/the 50th annual Meeting of the Japanese Society for Pediatric Endocrinology (APPES & JSPE): Nov. 17-20, 2016, Tokyo (Japan) (国際学会)
- ⑥ Fukuhara S, Nakajima H, Kodo K, Sugimoto S, Itoh I, Shigehara K, Mori J, Morimoto H, Moroto M, Morimoto M, Hosoi H. The collapse of BDNF/POMC system is responsible for the extreme obesity with hyperphagia in female MeCP2 knockout mice fed with high-fat diet. The 55th meeting of European Society of Paediatric Endocrinology (ESPE): Oct.10-12, 2016, Paris (France) (国際学会)

際学会)

- ⑦ Kodo K, Nakajima H, Fukuhara S, Sugimoto S, Itoh I, Shigehara K, Morimoto H, Mori J, Kosaka K, Hosoi H. Erythropoietin activates energy expenditure and also promotes FGF21 secretion on classical brown adipose tissue with the consequence of improving obesity and glucose tolerance on high-fat induced obese mice. The 55th meeting of European Society of Pediatric Endocrinology (ESPE): Oct. 10-12, 2016, Paris (France) (国際学会)
- ⑧ 中島久和, 福原正太, 伊藤育世, 幸道和樹, 茂原慶一, 森元英周, 杉本哲, 小坂喜太郎, 細井創. 褐色脂肪組織の特異的機能遺伝子 SNPs と小児肥満との関連性の検討. 第 119 回日本小児科学会学術集会. 2016 年 5 月 13 日~15 日、札幌
- ⑨ 伊藤育世, 中島久和, 森元英周, 福原正太, 茂原慶一, 幸道和樹, 杉本哲, 小坂喜太郎, 細井創. 中学生におけるグレリン遺伝子多型と日本語版 DEBQ を用いた食行動の関連. 第 119 回日本小児科学会学術集会. 2016 年 5 月 13 日~15 日、札幌
- ⑩ 福原正太, 中島久和, 幸道和樹, 伊藤育世, 茂原慶一, 森元英周, 杉本哲, 森潤, 小坂喜太郎, 細井創. 自閉症性発達障害モデル動物である MeCP2 ノックアウトマウスの肥満形成の病態生理. 第 89 回日本内分泌学会学術集会. 2016 年 4 月 21 日~23 日、京都
- ⑪ Kodo K, Nakajima H, Itoh I, Sugimoto S, Fukuhara S, Shigehara K, Kosaka K, Nishikawa T, Hosoi H. Erythropoietin activates thermogenesis and improves glucose intolerance by upregulating PRDM16 of brown adipose tissue in high-fat diet induced obese mice. Joint Annual Conference of the International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes and Australasian Pediatric Endocrine Group (ISPAD&APEG 2015): Oct.7-10, 2015, Brisbane (Australia) (国際学会)
- ⑫ Itoh I, Nakajima H, Sugimoto S, Kodo K, Fukuhara S, Shigehara K, Kosaka K, Hosoi H. The relationship between ghrelin (*GHRL*) gene polymorphisms and obesity among Japanese children in Kyoto-Japan. Joint Annual Conference of the International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes and Australasian Pediatric Endocrine Group (ISPAD&APEG 2015): Oct.7-10, 2015, Brisbane (Australia) (国際学会)
- ⑬ 伊藤育世, 中島久和, 幸道和樹, 福原正太, 茂原慶一, 杉本哲, 小坂喜太郎, 細井創.

グレリン遺伝子および *FTO* 遺伝子の
SNPs と小児肥満との関連解析. 第 33 回
日本肥満症治療学会学術集会. 2015 年 6 月
26 日~27 日、千葉

- ⑭ 幸道和樹、中島久和、杉本哲、福原正太、
茂原慶一、伊藤育世、西川太一郎、小坂喜
太郎、細井創. エリスロポエチンが褐色脂
肪組織の熱産生を維持する機序解明. 第
88 回日本内分泌学会学術集会. 2015 年 4 月
23 日~25 日、東京

〔図書〕(計 1 件)

- ① 澤田淳、細井創(編) ; 井上文夫、長村敏
生、木崎善郎、郷間英世、杉本徹、高野美
由紀、中島久和、長谷川功、細井創、松
村淳子、三沢あき子、森本昌史. 最新子ども
保健(第 2 版)、pp.79~111、日本小児医
事出版社(東京):2017

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

中島 久和 (NAKAJIMA Hisakazu)
京都府立医科大学・医学研究科・講師
研究者番号: 803639985

(2)研究分担者

小坂 喜太郎 (KOSAKA Kitaro)
京都府立医科大学・医学研究科・特任准教授
研究者番号: 60363983

(3)連携研究者

森 潤 (MORI Jun)
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号: 20750011

(4)研究協力者

杉本 哲 (SUGIMOTO Satoru)
京都府立医科大学・医学研究科・研修員

幸道 和樹 (KODO Kazuki)
京都府立医科大学・医学研究科・助教

伊藤 育世 (ITOH Ikuyo)
京都府立医科大学・医学研究科・研修員

福原 正太 (FUKUHARA Syota)
京都府立医科大学・医学研究科・大学院生

茂原 慶一 (SHIGEHARA Keiichi)
京都府立医科大学・医学研究科・大学院生