

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K14612

研究課題名(和文)人類学へのエピジェネティクスの展開：ヒトの遺伝形質の更なる理解を目指して

研究課題名(英文) Epigenome anthropology: aiming for a better understanding of human phenotypic variation

研究代表者

中山 一大 (Kazuhiro, Nakayama)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：90433581

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：遊牧民族と農耕民族の間での生活環境の相違が、エピジェネティクス情報および表現型の多様性に及ぼす影響を全ゲノムレベルで評価するべく、遊牧民族であるモンゴル人24名と、農耕民族であるタイ人24名の末梢血DNAのゲノムワイドメチル化レベルを定量し、集団間でメチル化レベルが大きくことなるCpG配列の同定を試みた。その結果、遊牧集団と農耕集団では、AMP活性型プロテインキナーゼ経路、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体経路などのエネルギー代謝に寄与する遺伝子群のプロモーター近傍のCpG配列が大きなメチル化レベルの差を示すことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：To evaluate the influence of differences in traditional life styles on epigenetic information and phenotypic diversity, We compared the genome-wide methylation levels of the peripheral blood DNA of 48 individuals from Mongolians (nomadic pastoralists) and Thai (agriculturalist). As a result, it was revealed that the CpG sequences near the promoter of the genes contributing to energy metabolism systems, such as the AMP activated protein kinase pathways and the peroxisome proliferator-activated receptor pathways, showed a large difference in methylation level.

研究分野：人類学

キーワード：エピジェネティクス 環境適応 ヒト 遊牧 農耕 DNAメチル化

### 1. 研究開始当初の背景

“エピジェネティクス”とは、遺伝子の発現パターンがゲノム DNA 配列の変化に依存することなく親から子へと継承される現象であり、生物の表現型の可塑性・多様性を説明しうる基盤として、そして癌をはじめとした各種疾患への感受性を規定する分子機構の一つとして大変注目されている。代表的なエピジェネティクス機構である DNA メチル化は、ゲノム中の CpG 配列 (p はヌクレオチド間のホスホジエステル結合) のシトシン塩基 (C) にメチル基が付加される現象で、遺伝子発現量を低下させることによって表現型の多様性に寄与している。

ゲノム全体のメチル化パターンは、発生のごく初期段階で一度消去され、その後再構築されるが、げっ歯類を用いた研究から、母胎内で低タンパク質などの栄養ストレスを経験した仔では、エネルギー代謝に関する遺伝子群にメチル化パターンの変化が起きており、成長後に糖尿病などの生活習慣病に罹患するリスクが高くなることが証明された。加えて、父獣が経験した栄養ストレスもメチル化パターンの変化として仔に伝えられることが報告されている。ヒトでも、いわゆる“オランダ飢饉”の経験者とその子孫を対照としたコホート研究で、祖父母・父母の代の栄養ストレスが子の生活習慣病罹患率を上昇させることが認められているが、DNA メチル化の変化がこれに伴っているか否かは不明である。

申請者は、モンゴル人 (遊牧集団) と日本人 (農耕集団) の間で観察される生活習慣病感受性の集団差について、異なる生業への遺伝的適応にその原因を求める研究を展開してきたが、他の遺伝疫学からの成果同様に、“遺伝する”と見做されてきた表現型分散の多くが未解明のままであることも明確となった。日本人の伝統食に魚介類・野菜類などがふんだんに取り入れられてきたのに対して、モンゴルでは、現代の都市生活者でも畜産物への依存が非常に強く、魚類・野菜類・果実類の摂取量は僅少である。従って、両集団では、胎児が母胎内で遭遇する栄養環境が大きく異なり、メチル化パターンにも顕著な差が認められる可能性が高い。ゲノム塩基配列の多様性では説明できなかった両集団の形質の差異が、文化や環境の違いによるエピジェネティクス修飾の相違を考慮に入れることによって、よりの確に説明できるかもしれない。

### 2. 研究の目的

本研究では、DNA マイクロアレイ技術を用いて、モンゴル人と日本人の DNA メチル化状態を全ゲノムレベルで評価し、バイオインフォマティクス手法・分子生物学的手法を用いて両者の相違を明らかにする。さらに、集団間で大きくメチル化程度の異なるゲノム領域が同定された場合、それが形質多様性と相関を示すか否かを、肥満等の生活習慣病関連

測定値を指標として遺伝疫学的に解析し、明らかにする。以上を通して人類の形質多様性と進化の理解に、エピジェネティクスが寄与しているかを見極める。

### 3. 研究の方法

東アジア地域の遊牧民族と農耕民族を代表する集団として、モンゴル人とタイ人および日本人を研究対象とした。互いに血縁関係のないモンゴル人成人男性とタイ人成人男性それぞれ 24 名づつより提供を受けた末梢白血球由来のゲノム DNA を対象に、Human Methylation450K BeadChip microarray (Illumina 社) を用いて約 45 万部位の CpG 配列のメチル化レベルを定量した。なお、提供者の平均年齢は  $49.9 \pm 8.5$  歳、ボディマス指標は  $24.1 \pm 3.7 \text{kg/m}^2$ 、年齢、ボディマス指標、喫煙習慣、飲酒習慣には群間差を認めなかった ( $P > 0.05$ )。

2 集団間でメチル化レベルの差を示す個別の CpG 配列および遺伝子の同定に ReBeads を用いた。集団間で大きなメチル化レベルの差を示す遺伝子群になんらかの機能的傾向があるかどうかを確認する目的で、遺伝子セットエンリッチメント解析を実施した。遺伝子セットエンリッチメント解析には Cytoscape および CluGo プラグインを用いた。

タイ人・モンゴル人の間で大きなメチル化レベルの差を示した CpG 配列について、日本人成人女性 (32 名) の末梢白血球由来の DNA メチル化情報を参照し、モンゴル人が逸脱したメチル化レベルを示すものを検索した。なお、上記日本人成人女性の DNA メチル化データは、Infinium MethylationEPIC BeadChip Kit を用いて取得した。

### 4. 研究成果

モンゴル人・タイ人のゲノムワイドメチル化レベル測定実験から得られたおよそ 45 万の CpG 配列のメチル化レベルデータについて Surrogate variable 解析を実施し、集団の違いのみがゲノムワイドなメチル化傾向に有意に相関しており、喫煙歴、飲酒歴、肥満度は大きな影響を持たないことを確認した。

モンゴル人・タイ人集団間で特に大きなメチル化レベルの差を示した CpG 配列 (全 CpG 配列中上位 0.05% 以上) のうち、遺伝子のプロモーター近傍、あるいは DNase 高感受性部位に位置するものには、エネルギー代謝等に重要な転写因子・シグナルタンパク質・酵素遺伝子が数多く含まれていた。例えば、ステアロイル CoA 不飽和化酵素遺伝子、アセチル CoA カルボキシラーゼ 遺伝子、スクアレン エポキシダーゼ遺伝子など脂質代謝に関する遺伝子群がモンゴル人で脱メチル化傾向にあることが発見された。

上記の高順位 CpG 配列と近傍の遺伝子情報を用いて遺伝子セットエンリッチメント解析を実施したところ、モンゴル人・タイ人集団間では、AMP 活性化プロテインキナーゼシ

グナル経路、ペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体シグナル経路、哺乳類ラパマイシン標的タンパク質シグナル経路などの個体・細胞のエネルギー代謝の制御に非常に重要な役割を果たす生物学的経路に關与する遺伝子が多く含まれていることが明らかになった。

ここまでの解析で同定した大きなメチル化レベルの差を示す CpG 配列群について、日本人女性でのメチル化レベル測定結果を追加することにより、モンゴル人でよりメチル化レベルの違いが大きいものを選抜した。その結果、ソルピトール脱水素酵素 (SORD) 遺伝子の転写開始点からおよそ 1500 塩基対上流にある CpG 配列群がモンゴル人で特に強くメチル化されていることが明らかになった (図 1)。

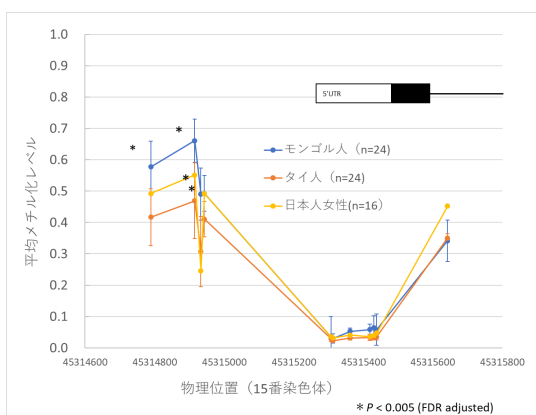


図 1 SORD1 上流域の CpG 配列群におけるメチル化レベルの集団差

SORD は細胞内のソルピトールをフルクトースに変換する反応を触媒する酵素である。ソルピトールは、細胞内の余剰グルコースから合成される糖アルコールで、エネルギー代謝や細胞内浸透圧の調節に關与し、飢餓、寒冷、乾燥などのストレスへの応答と関係している。モンゴル人での高いメチル化傾向は、この集団で SORD 遺伝子の発現量が低下し、その結果細胞内ソルピトールの貯蓄量が増加していることを示している。SORD の発現低下は砂漠などの水分摂取が制限される環境に置かれた動物の腎組織で確認されており、乾燥ストレス応答の一つと考えられる。また、SORD 遺伝子上流の CpG 配列群で、特に集団間で大きなメチル化レベルの差を示した CpG 配列は、糖尿病患者の母体から生まれた子と非糖尿患者の母体から生まれた子の間でメチル化レベルの差を占めることが報告されており、胎生期の環境と出生後の表現型可塑性をつなぐエピジェネティクス部位として有望である。現在は、当該 CpG 配列群のメチル化レベルが表現型に及ぼす影響を調査する目的で、5000 人程度の大規模健康診断コホートを対象に、DNA メチル化レベルの測定実験の条件検討を行っている。

## 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 7 件)

1. Boonvisut S, Yoshida K, Nakayama K, Watanabe K, Miyashita H, Iwamoto S. Identification of deleterious rare variants in MTTP, PNPLA3, and TM6SF2 in Japanese males and association studies with NAFLD. *Lipids Health Dis.* 2017. 16:183 査読有
2. Nakayama K, Ohashi J, Watanabe K, Munkhtulga L, Iwamoto S. Evidence for Very Recent Positive Selection in Mongolians. *Mol Biol Evol.* 2017. 34:1936-1946 査読有
3. Nakayama K, Iwamoto S. An adaptive variant of TRIB2, rs1057001, is associated with higher expression levels of thermogenic genes in human subcutaneous and visceral adipose tissues *J Physiol Anthropol.* 36:16 2017 査読有
4. Nakayama K, Saito S, Watanabe K, Miyashita H, Nishijima F, Kamo Y, Tada K, Ishizuka S, Niwa T, Iwamoto S, Shimizu H\*. Influence of AHRP Pro189Ala polymorphism on kidney functions. *Biosci Biotech Biochem.* 2017. 81:1120-1124 査読有
5. Watanabe K, Nakayama K, Ohta S, Tago K, Boonvisut S, Millings EJ, Fischer SG, LeDuc CA, Leibel RL, Iwamoto S. ZNF70, a novel ILDR2-interacting protein, contributes to the regulation of HES1 gene expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016 477:712-6. 査読有
6. Horiguchi S, Nakayama K, Iwamoto S, Ishijima A, Minezaki T, Baba M, Kontai Y, Horikawa C, Kawashima H, Shibata H, Kagawa Y, Kawabata T. Associations between a fatty acid desaturase gene polymorphism and blood arachidonic acid compositions in Japanese elderly. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2016 105:9-14. 査読有
7. Boonvisut S, Nakayama K, Makishima S, Watanabe K, Miyashita H, Lkhagvasuren M, Kagawa Y, Iwamoto S. Replication analysis of genetic association of the NCAN-CILP2 region with plasma lipid levels and non-alcoholic fatty liver disease in Asian and Pacific ethnic groups. *Lipids Health Dis.* 2016 15:8. 査読有

[学会発表](計 10 件)

1. Nakayama K, Variable selective pressures at energy metabolism genes among East Asians, Zhejiang University- The University of Tokyo Joint Symposium 2017, 2017/11/29, 東京大学 (千葉県柏市)
2. 中山一大, Munkhtulga Lkhagvasuren, 岩本禎彦, 東アジア人での遊牧・農耕に関連したポリジーン適応の検証, 日本生理人類学会第 76 回大会, 2017/11/19, 京都大学 (京都府京都市)
3. 中山一大, エネルギー代謝システムの多様化に関するエピジェネティクスの探索, 第 71 回日本人類学会大会, 2017/11/4, 東京大学 (東京都文京区)
4. Nakayama K, Signature of recent natural positive selection in Mongolian genomes, The 89th Annual Meeting of the Genetic Society of Japan, 2017/9/13, 岡山大学 (岡山県岡山市)
5. 中山一大, 農耕・牧畜成立に関連するゲノム多様性 - 現代人の疾患感受性との関連で -, 2016 年度西洋史研究会大会, 2016/11/20, 東北大学 (宮城県仙台市)
6. 中山一大, 渡邊和寿, Munkhtulga Lkhagvasuren, Sukhumsirichart Wasana, 香川靖雄, 岩本禎彦, 遊牧民族と農耕民族のゲノムワイドメチル化パターンの比較, 日本生理人類学会第 74 回大会, 2016/10/23, 和倉温泉観光会館 (石川県七尾市)
7. 中山一大, ゲノムワイド SNP 情報から表現型へのアプローチ: ヒトでの研究例を中心に, 日本比較臨床医学会第 47 回学術集会シンポジウム, 2016/10/16, 獣医生命科学大学 (東京都武蔵野市)
8. 中山一大, 渡邊和寿, 岩本禎彦, 大橋順, CADM2-VGLL3 遺伝子領域に見出されたモンゴル人特異的な正の自然選択の年代推定, 第 70 回日本人類学会大会, 2016/10/8, NGS 学生総合プラザ STEP (新潟県新潟市)
9. 中山一大, 渡邊和寿, Lkhagvasuren Munkhtulga, Wasana Sukhumsirichart, 香川靖雄, 岩本禎彦, ゲノムワイド DNA メチル化パターンの多様性: 遊牧集団と農耕集団の比較, 第 70 回日本栄養・食糧学会大会, 2016/5/14, 武庫川女子大学 (兵庫県武庫川市)
10. Nakayama K, Ohashi J, Munkhtulga L, Iwamoto S, Detection of Population Specific Signals of Positive Selection in Mongolians, The 13th International Congress of Human Genetics, 2016/4/5, 京都国際会館 (京都府京都市)

〔図書〕(計 1 件)

1. 中山一大 (編) 市石博 (編) 人類学教育普及委員会 (監) つい誰かに教えたい人類学 63 の大疑問 講談社 2015 年 187 ページ

〔産業財産権〕

出願状況 (計 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 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

<https://anthropol-nakayama.jimdo.com/>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

中山 一大 (NAKAYAMA, Kazuhiro)  
 東京大学・大学院新領域創成科学研究科・  
 准教授

研究者番号: 90433581

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号:

##### (4) 研究協力者

( )