

令和 元年 6 月 20 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09754

研究課題名(和文) エピジェネティクス規定SNPと環境因子によるレジスチン遺伝子発現調節機構の解明

研究課題名(英文) Regulation of human resistin gene expression by SNPs determining epigenetics and environmental factors

研究代表者

大澤 春彦 (Osawa, Haruhiko)

愛媛大学・医学系研究科・教授

研究者番号：90294800

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)：日本人一般住民約2000名について、SNP-420のメチル化率定量をほぼ終了した。環境因子や検査結果も含めてデータベースを構築した。また、新たに検診に参加した一般住民について、環境因子・臨床検査情報と共に、保存血清とDNA抽出用のサンプルを収集した。一般住民2000名について、血中レジスチンと環境因子の関連を遺伝疫学的に解析した。食事から摂取する栄養素を食物摂取頻度調査票により推定した。その結果、摂取したn-3多価不飽和脂肪酸と血中レジスチンが負に関連した。この関連は、SNP-420の遺伝子型がG/G型の場合に最も強く、遺伝子・環境因子相互作用を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般住民の検診データベースを構築し、サンプルを収集した。これにより、遺伝子・環境因子の臨床パラメータに対する影響を解析できるようになった。実際、摂取したn-3多価不飽和脂肪酸と血中レジスチンとの負の関連は、SNP-420の遺伝子型がG/G型の場合に最も強く、遺伝子・環境因子相互作用の一つのモデルを示すことができた。

研究成果の概要(英文)：To examine the relation between serum resistin and environmental factors, we analyzed ~2000 Japanese subjects in the Toon Genome Study. Dietary nutrients were inferred from Food Frequency Questionnaire. Serum resistin was inversely associated with n-3 poly, unsaturated fatty acids intake. This association was strongest in the SNP-420 G/G genotype, suggesting gene-environment interaction.

研究分野：代謝学

キーワード：レジスチン インスリン抵抗性 SNP エピジェネティクス 遺伝子発現 2型糖尿病 遺伝子 環境因子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マウスにおいて、レジスチンは、主として脂肪細胞から分泌され、インスリン作用に拮抗するサイトカインである(Nature 409: 307, 2001)。実際、レジスチンの過剰発現はインスリン抵抗性を引き起こす。また、ノックアウトは空腹時血糖を低下させる(Science 303: 1195, 2004)。一方、ヒトでは、レジスチンの主たる発現部位は単球・マクロファージである。高脂肪食は腸内細菌叢を変化させ、血中エンドトキシン(細菌の内毒素)を増やす。エンドトキシンはレジスチン発現を増強する。すなわち、ヒトにおいて、レジスチンは、環境因子、炎症、インスリン抵抗性をリンクする鍵分子である。

申請者らは、レジスチン SNP-420 の C から G への変化が、転写因子 Sp1/3 の特異的結合を介して 2 型糖尿病リスクを高めることを見出した(Am J Hum Genet 75: 678, 2004)。さらに、SNP-420 は、レジスチンの血中濃度及び単球 mRNA を強く規定した(BBRC 335: 596, 2005、Diabetes Care 30: 1501, 2007)。これは、2 型糖尿病の原因遺伝子から発症までの過程を、セントラルドグマに沿って、遺伝学的かつ機能的に証明した世界で初めての知見である。

これに加え、SNP-420 のメチル化効果も見出した。SNP-420 は C の場合にのみ CpG 配列となり、メチル化されることが想定される。申請者らは、一般住民において、SNP-420 のシトシンメチル化率をパイロシーケンス法により定量した。その結果、実際に、SNP-420 は C の場合にメチル化され、C/C 型のメチル化率と血中レジスチンが負に関連した。すなわち、SNP-420 は”遺伝子型効果”と”メチル化効果”を併せ持つ。この独自の知見である SNP-420 の”dual effect”に焦点を絞り、遺伝子発現・血中濃度調節機構の研究を発展させ、SNP・環境因子・メチル化を統合的に解析しようという着想に至った。

2. 研究の目的

レジスチンは、インスリン抵抗性惹起性サイトカインである。申請者らは、その遺伝子発現・血中濃度が転写調節領域の一塩基多型(SNP)-420 の”遺伝子型効果”ならびに”DNA メチル化効果”によって強く規定されることを見出した。一方、環境因子はメチル化等のエピジェネティクスを介して遺伝子発現に影響しうる。本研究では、この独自の知見である SNP-420 の”dual effect”に焦点を絞り、SNP・環境因子・メチル化を統合したレジスチン遺伝子発現調節機構を解明する。具体的には、SNP-420 の遺伝子型を決定し、メチル化を定量する。培養細胞を用いた環境因子液性 mimetics による分子機構の解析、ヒトの単離単球を用いた生体内意義の解析、定量化環境因子データを用いた遺伝疫学解析を体系的に組み合わせる。こうして、2 型糖尿病、動脈硬化等のインスリン抵抗性関連疾患の新たな発症予防・治療戦略を見出す。

3. 研究の方法

本研究では、レジスチン SNP-420 を標的として、SNP・環境因子・メチル化の統合的解析によりレジスチン遺伝子発現調節機構を解明する。具体的には、レジスチン SNP-420 の”遺伝子型効果”及び”DNA メチル化効果”の”dual effect”に焦点を絞って解析する。まず、in vitro において、ヒト単球培養細胞を用いて、レジスチン SNP-420 と環境因子液性 mimetics の DNA メチル化、プロモーター活性、mRNA に対する効果を解析する。次に、ヒト in vivo での意義について、単離単球を用いて、レジスチン SNP の DNA メチル化・遺伝子発現・血中濃度への効果を解明する。さらに、一般住民約 4500 例の遺伝疫学的解析により、SNP 及び定量化環境因子の DNA メチル化・血中濃度への効果を解析する。こうして、2 型糖尿病、動脈硬化等のインスリン抵抗性関連疾患の新たな発症予防・治療戦略を見出す。

実験は、以下の3つに沿って進める。

目的1: レジスチン SNP と環境因子液性 mimetics の DNA メチル化・遺伝子発現への効果

-ヒト単球培養細胞 in vitro 解析-

目的2: レジスチン SNP の DNA メチル化・遺伝子発現・血中濃度への効果

-ヒト in vivo 解析-

目的3: レジスチン SNP と定量化環境因子の DNA メチル化・血中濃度への効果

-遺伝疫学的解析-

4. 研究成果

日本人一般住民約2000名について、SNP-420のメチル化率定量をほぼ終了した。環境因子や検査結果も含めてデータベースを構築した。また、新たに検診に参加した一般住民について、環境因子・臨床検査情報と共に、保存血清とDNA抽出用のサンプルを収集した。

一般住民2000名について、血中レジスチンと環境因子の関連を遺伝疫学的に解析した。食事から摂取する栄養素を食物摂取頻度調査票により推定した。その結果、摂取したn-3多価不飽和脂肪酸と血中レジスチンが負に関連した。この関連は、SNP-420の遺伝子型がG/G型の場合に最も強く、遺伝子・環境因子相互作用を認めた。また、血中レジスチンとSNP-420のメチル化率は負に関連した。THP-1ヒト単球細胞を用いて、EPAのレジスチンmRNAに及ぼす影響についても検討した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

1. Noumi, Y., Kawamura, R., Tabara, Y., Maruyama, K., Takata, Y., Nishida, W., Okamoto, A., Nishimiya, T., Onuma, H., Saito, I., Tanigawa, T., and Osawa, H. An inverse association between serum resistin levels and n-3 poly, unsaturated fatty acids intake was strongest in the SNP-420 G/G genotype in the Japanese cohort: The Toon Genome Study. Clin Endocrinol 88: 51-57, 2018.

〔学会発表〕(計2件)

1. 羽立登志美, 川村 良一, 田原 康玄, 高田 康徳, 高門 美沙季, 丸山 広達, 西田 互, 松下 由実, 大沼 裕, 谷川 武, 斉藤 功, 大澤 春彦.

SNP-420のメチル化率は、C/C型において血中レジスチン及びインスリン抵抗性と負に関連する
「東温ゲノムスタディ」

第61回日本糖尿病学会年次学術集会 2018年.

2. 大澤春彦. ヒトにおける血中レジスチン調節機構と体質.

第67回日本体質医学会総会 会長講演 2017年.

〔図書〕(計0件)

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ

<https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/clab/index.html>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：大沼 裕

ローマ字氏名：(Oonuma hiroschi)

所属研究機関名：東京女子医科大学

部局名：医学部

職名：准教授

研究者番号（8桁）：00294794

研究分担者氏名：高田 康徳

ローマ字氏名：(Takata yasunori)

所属研究機関名：愛媛大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：講師

研究者番号（8桁）：20432792

研究分担者氏名：川村 良一

ローマ字氏名：(Kawamura ryoichi)

所属研究機関名：愛媛大学

部局名：医学部附属病院

職名：講師

研究者番号（8桁）：90533092

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：