

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17651

研究課題名(和文) オセアニア人はなぜ肉置き豊かなのか? -オセアニアの移住史と肥満関連アリルの由来-

研究課題名(英文) Why are people in Oceania overweight? -Origin of the obesity-related alleles-

研究代表者

中 伊津美 (NAKA, IZUMI)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・特任研究員

研究者番号：10723778

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、なぜオセアニア人は肉置き豊かなのか?という問いに答えるべく、オーストラリア・アボリジニと東アジア人のBMI増加と関連が報告されているSNPについて解析を行った。rs1347857とrs11671664がオセアニア集団のBMI増加と有意な関連を示したが、集団平均に対するBMI増加の効果(2 f)は小さく、祖先集団から受け継いだBMI関連アリルのみではオセアニア集団の高いBMIを説明できなかった。GIPR遺伝子上の多型は、経口グルコース負荷後2時間の血糖値と強く関連することが知られている。シークエンス解析によって、トンガ人のGIPR遺伝子上のRBP結合サイトに5個の新規多型を検出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オセアニア地域において、肥満や肥満からもたらされる高血圧、糖尿病や脂質異常症などの生活習慣病は深刻な健康問題となっている。本研究によって、祖先集団から受け継いだBMI増加関連アリルの蓄積のみではオセアニア集団の肥満罹患率の高さを説明することはできなかった。

オセアニア集団特異的変異の存在が明らかになり、リモートオセアニアに移住した人類が、新たな環境に適応する過程で生じた遺伝的多様性の理解にはさらなる解析が必要である。

研究成果の概要(英文)：Why are Oceanians overweight? To answer this question, we analyzed SNPs reported to be associated with increased BMI in Australian Aborigines and East Asians. Although two SNPs, rs1347857 and rs11671664, were significantly associated with increased BMI in the Oceanian populations, their effects on the population mean (2 f) of BMI was small, and the BMI-associated alleles inherited from the ancestral population alone failed to explain higher BMI in the Oceanian populations. A polymorphism on the GIPR gene is known to be strongly associated with glucose levels at 2 hours after oral glucose tolerance test. Our sequence analysis detected five novel polymorphisms at the RBP binding site on the GIPR gene in Tongan subjects.

研究分野：人類遺伝学

キーワード：オセアニア SNP BMI

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

南太平洋に位置するオセアニアは、地理学的にメラネシア、ミクロネシア、ポリネシアに分類される。人類学的、考古学的、言語学的研究などにより、現生人類のオセアニア地域へ大規模な移住が、過去 2 回あったことが分かっている。1 回目は今から約 5 万年前に、アフリカ集団との遺伝的近縁性を残した第一の移住者が、スンダ大陸 (現在のスマトラ島、ジャワ島、ボルネオ島の陸つづき) からサフル大陸 (現在のオーストラリア大陸とタスマニア島、ニューギニア島の陸つづき) にまで到達した。2 回目は約 5 千年前以降に、(おそらく) 台湾を起源とする (東南) アジア集団と高い遺伝的近縁性を示す第二の移住者が、ニューギニア島北側を西から東へ移住し、さらにポリネシアやミクロネシアに短期間で到達したと考えられている。言語学的には、第一の移住者は非オーストロネシア語族 (NAN)、第二の移住者はオーストロネシア語を話すオーストロネシア語族 (AN) に分類される。現代においては、第一の移住者の子孫集団と考えられているオーストラリア先住民 (アボリジニ) やニューギニア島の大部分では非オーストロネシア語が、それ以外のオセアニア地域では主にオーストロネシア語が話されている。

近年、オセアニア地域において、肥満や肥満からもたらされる高血圧、糖尿病や脂質異常症などの生活習慣病は深刻な健康問題となっている。WHO の報告 (2014 年) によると、国別でみた肥満者 (BMI ≥ 30 kg/m²) の割合は、1 位 Cook Island、2 位 Palau、3 位 Nauru、4 位 Samoa、5 位 Tonga と、上位 5 か国すべてがオセアニア地域に属している。

先行研究のアボリジニを対象とした全ゲノム SNP 関連解析 (GWAS) において、4 個の SNP が BMI 増加と関連することが報告された。これらの SNP は、これまで BMI や二型糖尿病の GWAS では報告されていない遺伝子上・近傍に存在していたが、他集団の GWAS で関連が報告されている主要な pathway に属する遺伝子であった (Anderson et al., 2015)。また、サモア人を対象とした GWAS において、*CREBRF* 遺伝子上流領域にある SNP の rs12513649-G アリルが、BMI 増加と関連することが報告された。このアリルはサモア人でのみ高頻度に観察され、他集団ではほとんど観察されないことから、サモア人の肥満の一因となっている儉約遺伝子アリルであることが示唆された (Minster et al., 2016)。我々が当該 SNP についてオセアニア集団の解析を行った結果、サモア人と同じ第二の移住者の子孫であるトンガ人集団において肥満関連アリル頻度が高く、第一の移住者の子孫であるギデラ族集団で観察されないことを見出した。さらに、年齢、性別、集団を調整した重回帰分析により、先行研究と同様、トンガ人集団において BMI 増加との有意な関連を見出した (rs12513649-G; $\beta = 2.85$ 、 $P = 0.000854$) (Naka et al., 2017)。以上より、rs12513649-G は、アジア人を起源とする代表的な肥満リスクアリルの一つと考えられた。

我々の先行研究から、オセアニアでは、第一の移住者である NAN 語族集団の祖先と、第二の移住者である AN 語族集団の祖先との間で、無視できない程度の遺伝的交流 (混血) があったことが示唆されており (Ohashi et al., Am J Phys Anthropol, 2006; Ohashi et al., J Hum Genet., 2006; Ohashi et al., Anthropolo Sci., 2006)、第一の移住者と第二の移住者がオセアニアで混血した際に、集団の肥満リスクアリルの双方が混血集団 (オセアニアの祖先集団) に受け継がれ、両者からの肥満リスクアリルの蓄積によって、オセアニア人の太りやすい体質 (遺伝的背景) が形成されたとする仮説を着想した。

2. 研究の目的

本研究では、なぜオセアニア人は肉置き豊かなのか? という問いに答えるべく、第一の移住者 (パプアン集団) と第二の移住者集団 (アジア集団) の子孫集団の肥満候補遺伝子多型についてオセアニア地域集団の遺伝子解析を行い、(1) オセアニア集団の移住・混血の歴史、(2) 肥満リスクアリルの由来を解明し、オセアニアで観察される高い肥満罹患率の進化遺伝学的背景を明らかにする。このことより、新たな仮説「オセアニア集団は、第一の移住者と第二の移住者集団の双方から肥満リスクアリルを受け継いだ」を検証することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 対象

オセアニア地域在住の健康成人 (18 歳以上) 821 名を対象とした。地域ごとの内訳は、ポリネシア: トンガ王国ヌクアロファ島とハーバイ諸島から 175 名、メラネシア: ソロモン諸島ラワキ村民 108 名 (40 年前にミクロネシアより移住してきた集団なため遺伝学的にはミクロネシア人として扱う)、ソロモン諸島ムンダ町民 170 名、ソロモン諸島のクサゲ村民 202 名、パプアニューギニアギデラ族 166 名を対象とした (図 1)。

(2) 関連解析候補 SNP の選択

① パプアン集団と祖先を共有すると考えられているオーストラリアのアボリジニと東アジア集団を対象とした先行研究 (Wen et al., 2012, Okada et al., 2012, Wen et al., 2014) より、BMI と関連する 17 個の SNP を選定した。

② 東アジア集団 (1KG_EAS) とトンガ集団間で Wright の F_{ST} を算出し、 F_{ST} 値が大きかった SNP からマイナーアリル頻度 (MAF) > 0.05 、かつ BMI 及び肥満との関連が報告された遺伝子上に存在する 2 個の SNP (Yasukochi et al., 2018, Lee et al., 2016) を選定した。

(3) 遺伝子型決定

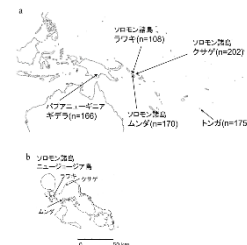


図 1 対象集団
a. オセアニア地域を構成する主要な集団の地理的位置と対象集団。
b. ソロモン諸島東部のラワキ・ギデラに由来する対象集団。

- ① 関連解析：TaqMan genotyping assay 法により遺伝子型の決定を行った。
- ② 集団遺伝学的解析：トンガ集団とギデラ族サンプルの一部は Affymetrix 500K Nsp チップによって遺伝子型を決定したデータを使用した。
- ③ 次世代シーケンシング解析：トンガ集団とギデラ族サンプルの一部は Novaseq を使用した全ゲノム配列決定を行い遺伝子型の決定を行った。

(4) 関連解析

BMI、身長、体重を従属変数とし、年齢、性別、SNP を独立変数とした重回帰モデル ($y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3$) を用いて、形質と各 SNP の関連を評価した。P<0.05 以下の場合に統計学上有意とした。SNP が形質の集団平均に与える影響を評価するため、 $2\beta_3 f (= 2\beta_3 * f^2 + \beta_3 * 2f * (1-f))$ を算出した。なお、年齢のデータがないため、ギデラ族は関連解析の対象から除いて統計解析を行った。

(5) eQTL 解析

Genotype-Tissue Expression (GTEx) データベース (GTEx Portal (<https://gtexportal.org/home/>)) より、SNP の遺伝子転写量への影響を調べた。

(6) スライディングウィンドウ解析

Hap Map YRI, EAS, ギデラ族 (GDR) の中から、1集団でも多型的な SNP を選択した (156,800 SNP)。window size が 500Kb の中に SNP 数が 10 以上含まれる領域の各 SNP について

$$\text{Index} = \frac{\text{abs}(\text{AF_GDR} - \text{AF_YRI})}{\text{abs}(\text{AF_GDR} - \text{AF_YRI}) + \text{abs}(\text{AF_GDR} - \text{AF_EAS})}$$

を計算し、各 window の平均を計算した。ギデラ族と YRI のアレル頻度差が小さい SNP が集積するゲノム領域 (アフリカ人近縁ゲノム領域) を抽出 (step size は 50Kb) した。

(7) 遺伝的リスクスコア

各個体の遺伝的な BMI 増加のリスク (Xu et al., 2003) を算出するため、BMI との関連が報告されている SNP を用いて、各個体の遺伝的リスクスコアを次式により算出した。

$$\text{riskscore} = (X_1 + X_2 + \dots + X_i + \dots + X_n) / (2 * n)$$

n: BMI 関連 SNP の数、 X_i : i 番目の SNP の BMI 増加と関連するアレルの数

(8) モチーフ検索

① RBPmap を用いて、配列上の RNA 結合タンパク質 (RBP) 結合部位予測を行った。(RBPmap <http://rbpmap.technion.ac.il/index.html>)

② JASPAR を用いて、配列上の転写因子結合予測を行った。(JASPAR <http://jaspar.genereg.net/>)

4. 研究成果

(1) ギデラ族におけるアフリカ人近縁ゲノム領域

ギデラ族集団は、第一の移住者の子孫集団と考えられており、遺伝的にはアフリカ集団やヨーロッパ集団よりもアジア集団と近縁であるが、肌の色や毛髪の形態などの可視的形質の一部はアフリカ人と似た特徴を有している。ギデラ族で現在も維持されているアフリカ人近縁ゲノム領域を抽出し、アフリカ人様表現型との関連を検討した。

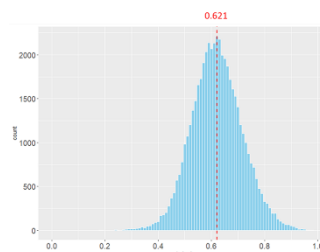


図2 各windowの平均index

① ギデラ族の身体的特徴はアフリカ人に類似するが、Index の平均値は 0.62 であり、ゲノムはアフリカ集団よりも東アジア集団に近いことが確認された (図 2)。

② スライディングウィンドウ解析の結果、17 番染色体の 17p11.2 領域 (TOM1L2 周辺領域) と 12 番染色体 12q24.13 領域 (TRAFD1 周辺領域) に、強いアフリカ人近縁ゲノム領域を検出した。GTEx Portal による解析から、YRI と同程度のアレル頻度を示す SNP のいくつかは、17p11.2 領域では *TOM1L2* 遺伝子の発現量増加と、12q24.13 領域では、*TMEM116* 遺伝子の発現量低下と関連していた。*TMEM116* 多型は韓国人で血圧上昇、胴囲増加、メタボリックシンドロームとの関連が報告されており、その関連アレルはギデラ族で固定していた (図 3)。

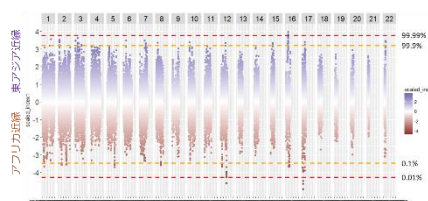


図3 ギデラ族のアフリカ人または東アジア人近縁ゲノム領域

③ アフリカ人近縁ゲノム領域上位 0.1 パーセントには 66 遺伝子が含まれていたが、過去の GWAS やテキストマイニングの結果からは、ギデラ族のアフリカ人様表現型を説明する遺伝子は見出されなかった。また、これら 66 遺伝子について GO 解析を行ったが、特徴ある pathway は検出されなかった。

(2) アボリジニ BMI 関連 SNP の解析

オーストラリアアボリジニは、第一の移住者集団の遺伝的背景を現在も維持している。第一の移住者がすでに保有していた BMI 関連アレルが、現在のオセアニア集団でも同様に BMI 増加と関連を示すのか、特にポリネシア集団における平均 BMI 増加との関連の可能性を検討した。

① 年齢・性別・集団を調整した BMI との重回帰分析の結果、アボリジニの BMI 増加と関連する *NTRK2* 遺伝子上流に位置する rs1347857-G アレルがオセアニア地域集団の BMI 増加と有

意に関連していた ($P = 0.021$)。rs1347857-G アリルを 1 コピー持つごとに BMI が 1.03 kg/m^2 増加した。*NTRK2* 遺伝子は BDNF の受容体をコードし、脳において MC4R の下流でエネルギー平衡を制御する (Xu et al., 2003)。*NTRK2* 遺伝子は既知の BMI 関連遺伝子であるが、これまでに BMI との関連が報告されている SNP と rs1347857 は強い連鎖不平衡ではなく ($EAS; r^2 < 0.3$) rs1347857 はオーストラリアアボリジニに特異的な BMI 関連多型であるか、周辺の連鎖不平衡構造が異なる可能性が考えられる。

② アリル頻度を考慮した、集団平均に対する BMI 増加の効果 ($2\beta f$) は小さかった。このことから、rs1347857-G はオセアニア集団において BMI 増加に大きな影響を与える SNP とはいえなかった。

(3) 東アジア集団 BMI 関連 SNP の解析

第二の移住者はアジアを起源とすると考えられている。東アジア集団の BMI 増加と関連が報告されている SNP について、オセアニア地域集団の解析を行った。

① 年齢・性別・集団を調整した BMI との重回帰分析の結果、MC4R 遺伝子の rs591166-A アリルが、GIPR 遺伝子の rs11671664-G アリルがオセアニア地域集団の BMI 増加と有意に関連していた (MC4R $P = 0.023$, GIPR $P = 0.0065$)。リスクアリルを 1 コピー持つごとに BMI が 1.03 kg/m^2 (rs591166-A, rs11671664-G) 増加した。GIPR 遺伝子がコードするタンパクは小腸の K 細胞から合成されたグルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチドの受容体であり、食後のインスリン分泌に関わる (Finan et al., 2016)。先行研究の GWAS により (Berndt et al., 2013)、rs1800437 (Glu354Gln) の 354Gln と肥満との関連が報告されている。東アジア集団を用いた連鎖不平衡解析の結果、rs11671664 と rs1800437 との間には連鎖不平衡の関係は検出されなかった ($r^2 = 0.0003$)。

② アリル頻度を考慮した、集団の平均に対する効果 ($2\beta f$) は、GIPR 遺伝子の rs11671664 がトンガ集団で最も BMI 増加に関与すると考えられた (図 4)。

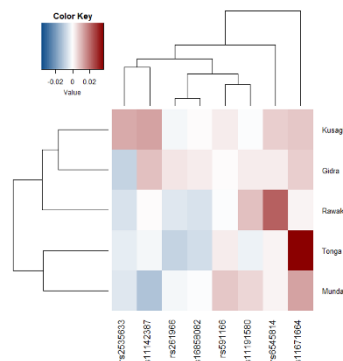


図 4 集団平均に対する BMI 増加の効果 (βf) のヒートマップ

(3) BMI 増加関連アリルの集団間比較

既知の BMI 増加アリル全てがオセアニア地域集団の BMI 増加と有意な関連を示すわけではなかったが、BMI 増加アリルの頻度がポリネシア人で増加している可能性がある。解析した 17 個の BMI 増加アリルの頻度を 1 KG の 26 集団と比較した結果、オセアニア地域集団において、BMI 増加関連アリルの頻度が他の地域と比べて特に高いわけではなかった。クラスタリングの結果、オセアニアを含めて、集団は大陸グループごとに分かれていたことから、BMI 増加アリルの頻度は、BMI の高低ではなく、集団の地理的位置関係を反映していると考えられた。

SNP の効果を統合して BMI に与える遺伝的影響を評価するため、1 KG の 26 集団とオセアニア地域集団に対して遺伝的リスクスコアを計算した。他の地域集団では、BMI 関連 SNP によって各個人の BMI がある程度説明できるのに対し、オセアニア地域集団ではあてはまらないことが明らかとなった (図 5)。

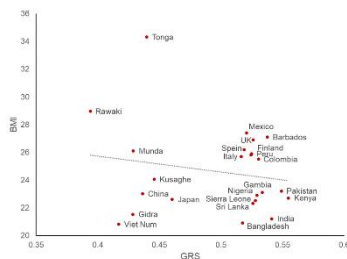


図 5 各集団の平均 BMI と平均遺伝的リスクスコア (GRS) の関係

(4) 遺伝的分化した SNP と BMI との関連

祖先集団から受け継いだ BMI 増加関連アリルのみではオセアニア集団の BMI を説明できなかったことから、ポリネシアのトンガ集団と東アジア集団の全ゲノム SNP 頻度データを用いて遺伝的分化の指標である F_{ST} を計算した。2 集団間でよく分化した SNP を抽出し、かつ BMI もしくは肥満との関連が報告されていた 2 個の SNP (*NKAIN2* 遺伝子上の rs332629、*NRG1* 遺伝子上の rs7001605) について解析を行った。その結果、いずれの SNP においても BMI との関連は検出されなかった。

(5) 次世代シーケンサーによる新規多型の探索

ポリネシア人特異的な変異を検出するため、トンガ人 29 人の全ゲノムシーケンセスを行った。上流 10Kb を含む GIPR 遺伝子上に 7 個 (遺伝子上流 2 個、遺伝子上 5 個) の新規多型を検出した。これらの新規多型とオセアニア集団の BMI と関連が検出された rs11671664 の間に連鎖不平衡は観察されなかった (図 6)。

GIPR 遺伝子上に検出された 5 個の新規 SNP はイントロンに存在している Intron Variant であるが、RBP 結合部位予測から全ての SNP は RBP 結合サイトに存在していた。変異の有無により選択的スプライシングが制御され、トンガ人特異的なアイソフォームの存在の可能性が示唆された。

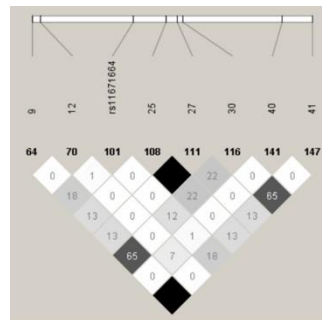


図 6 連鎖不平衡解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Issiki Mariko, Naka Izumi, Kimura Ryosuke, Furusawa Takuro, Natsuhara Kazumi, Yamauchi Taro, Nakazawa Minato, Ishida Takafumi, Ohtsuka Ryutarō, Ohashi Jun	4. 巻 63
2. 論文標題 Mitochondrial DNA variations in Austronesian-speaking populations living in the New Georgia Islands, the Western Province of the Solomon Islands	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 101 ~ 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s10038-017-0372-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Isshiki M, Naka I, Nishida N, Furusawa T, Kimura R, Natsuhara K, Yamauchi T, Nakazawa M, Ishida T, Inaoka T, Matsumura Y, Ohtsuka R, Ohashi J	4. 巻 17
2. 論文標題 Association of an intronic SNP of the EFEMP1 gene with height in Tongans.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Meta Gene	6. 最初と最後の頁 172-176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mgene.2018.06.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中 伊津美、木村 亮介、西田 奈央、中澤 港、大塚 柳太郎、大橋 順
2. 発表標題 パプアニューギニア・ギデラ族におけるアフリカ人由来ゲノム領域
3. 学会等名 日本人類遺伝学会大会第63回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 近藤 香那子、一色 真理子、中 伊津美、古澤 拓郎、木村 亮介、夏原 和美、山内 太郎、中澤 港、石田 貴文、稲岡 司、松村 康弘、大塚 柳太郎
2. 発表標題 オセアニア地域集団におけるBMIおよび糖尿病・脂質異常症関連形質と関連するSNPの探索
3. 学会等名 日本人類遺伝学会大会第63回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中伊津美、古澤拓郎、木村亮介、夏原和美、山内太郎、中澤 港、安高雄治、石田貴文、稲岡司、松村康弘、大塚柳太郎、大橋順
2. 発表標題 オセアニア集団におけるCREBRF 遺伝子同義変異とBMIとの関連
3. 学会等名 日本人類学会第71回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 一色真理子、中伊津美、西田奈央、古澤 拓郎、木村 亮介、夏原 和美、山内 太郎、中澤 港、石田貴文、稲岡 司、松村 康弘、大塚 柳太郎、大橋 順
2. 発表標題 オセアニア集団における身長関連遺伝子多型の検証
3. 学会等名 日本人類学会第71回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 近藤香那子、一色真理子、中伊津美、古澤 拓郎、木村 亮介、夏原 和美、山内 太郎、中澤 港、石田貴文、稲岡 司、松村 康弘、大塚柳太郎、大橋 順
2. 発表標題 オセアニア地域集団における BMI・脂質代謝と関連する SNP の探索
3. 学会等名 日本人類学会第71回大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ヒトゲノム多様性研究室ホームページ
<http://www.bs.s.u-tokyo.ac.jp/~humgendiv/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----