

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08910

研究課題名(和文) レジスチン遺伝子発現制御機構におけるプロモーターSNP配列特異的効果の統合的解明

研究課題名(英文) Allele-specific effects of promoter SNPs in regulation of the human resistin gene expression

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：一般住民約2000名について、SNP-420/-358のハプロタイプを解析した結果、G-A/G-Aにおいて血中レジスチンは最も高く、喫煙による上昇を認めた。G-A/G-AもしくはC-G/C-G、喫煙の有無の4群で解析した結果、G-A/G-Aにおいて、喫煙者はレジスチンmRNA、及び血中濃度が高かった。正常耐糖能者について、ハプロタイプと喫煙の有無で、インスリン抵抗性との関連を解析した。G-A/G-Aと喫煙がインスリン抵抗性に対し交互作用を認めた。以上より、レジスチンSNP-420/-358のハプロタイプと喫煙は、レジスチンmRNA及び血中濃度を高め、正常耐糖能者ではインスリン抵抗性と関連した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人一般住民約2000名について、レジスチンSNP-420/-358のハプロタイプを決定し、環境因子や各種臨床検査を統合したデータベースを整備した。また、新たに健診に参加した一般住民について、データとサンプルを収集した。さらに、全血細胞からRNAを抽出し、RT-PCRにより、SNP-420/-358のハプロタイプと喫煙によるレジスチンmRNAの変化を解析した。レジスチンSNP-420/-358のハプロタイプと喫煙は、レジスチンmRNA及び血中濃度を高め、正常耐糖能者ではインスリン抵抗性と関連した。遺伝子・環境因子相互作用の一つのモデルを示し、高精度医療につながる可能性が想定された。

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. Serum resistin was positively associated with current smoking. This association was strongest in the G-A/G-A haplotypes of SNP-420 and -358, suggesting gene-environment interaction.

研究分野：糖尿病

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

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

2型糖尿病の成因として、インスリン抵抗性(インスリンが効きにくくなること)がある。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。ヒトにおいて、レジスチンは、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。さらに、SNP-420 の G が血中レジスチンを高めるためには SNP-358 の A が必要であることを見出した(PLoS ONE 5: e9718, 2010)。統計学的には、個人間における血中レジスチンの変動の約 50%が SNP-420 と SNP-358 によって規定されていた。通常、SNP により臨床パラメーターの変動を説明できるのはせいぜい 1%に過ぎず、これは例外的に強い。すなわち、レジスチン遺伝子発現制御系は、2 型糖尿病発症メカニズム解明に絶好のモデルである。

申請者らは、質の高い臨床サンプルと精度の高い臨床情報からなる独自のコホートを有する。約 2000 名について、生活習慣、血清、RNA、DNA、代謝・動脈硬化指標等を収集した。既に 5 年間の前向き調査も終了し、個人の変化に基づく表現系も解析可能である。これまでに、SNP-420 と栄養摂取の遺伝子・環境因子相互作用も証明した(Clin Endocrinol 88: 51-57, 2018)。また、質の高い情報がある場合には、症例数が比較的少なくとも AI が効率よく深層学習することが示唆されている。

こうして、血中レジスチンが、SNP-420、SNP-358 によって強く規定されるという独自の知見と、質と精度の高い独自のコホートを統合し、2 型糖尿病発症予防のための高精度先制医療戦略を確立しようという着想に至った。

### 2. 研究の目的

レジスチンは、2 型糖尿病の成因であるインスリン抵抗性を引き起こすサイトカインである。申請者らは、その遺伝子発現が転写調節領域の 2 つの一塩基多型(SNP)、-420 と -358 の” 配列特異的効果” によって強く規定されることを見出した。すなわち、SNP-420/-358 配列が G-A でレジスチン高発現、C-G で低発現となる。本研究では、この独自の知見に焦点を絞り、SNP-420 と SNP-358 の” 配列特異的遺伝子発現制御機構” を解明する。

まず、ゲノム編集により、全ゲノム配列のうち、SNP-420 と SNP-358 の 2 か所のみ配列が異なるレジスチン高/低発現の培養、幹、iPS 細胞を作製し、配列特異的に規定されるクロマチン accessibility、転写因子、共役因子を同定する。同時に、配列特異的レジスチン発現の変化に呼応する標的遺伝子を同定する。さらに、遺伝疫学により、配列特異的に関連する早期のインスリン抵抗性のサブタイプを見出す。こうして、レジスチン遺伝子発現制御機構におけるプロモーター SNP 配列特異的効果を統合的に解明し、2 型糖尿病発症予防のための高精度先制医療戦略を確立する。

### 3. 研究の方法

本研究では、レジスチン SNP-420/-358 配列特異的効果を分子生物学・遺伝疫学的に解明する。

第一に、ゲノム編集により、全ゲノム配列のうち、SNP-420 と SNP-358 の 2 か所のみ配列が異なるレジスチン高発現と低発現の培養細胞及び iPSC 細胞等を作製し、配列特異的に規定されるクロマチン accessibility、転写因子、共役因子を同定する。第二に、配列特異的レジスチン発現の変化に呼応する標的遺伝子を同定する。第三に、遺伝疫学により、配列特異的に関連する早期インスリン抵抗性サブタイプを見出す。こうして、レジスチン遺伝子発現制御機構におけるプロモーターSNP 配列特異的効果を統合的に解明し、2 型糖尿病発症予防のための高精度先制医療戦略を確立する。実験は、以下の 3 つに沿って進める。

目的 1: 目的 1: ゲノム編集による転写調節 landscape へのレジスチン SNP-420/-358 配列特異的効果の解明

A: ゲノム編集による SNP 配列特異的培養細胞の作成と検証

B: 転写調節 landscape へのレジスチン SNP-420/-358 配列特異的効果の解析

目的 2: ゲノム編集による標的遺伝子発現へのレジスチン SNP-420/-358 配列特異的効果の解明

目的 3: 一般住民遺伝疫学による早期インスリン抵抗性サブタイプに対するレジスチン SNP-420/-358 配列特異的効果の解明

### 4. 研究成果

日本人一般住民約2000名について、既にタイピングした結果に基づきレジスチンSNP-420およびSNP-358によるハプロタイプを決定し、環境因子や各種臨床検査を統合してデータベースを整備した。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。また、Pax geneを用いて全血細胞からRNAを抽出した。RT-PCRを用いて、レジスチンSNP-420/-358ハプロタイプに特異的なレジスチンmRNAの変化を解析した。SNPの配列特異的効果については、まず、レジスチン高発現のG-A/G-A、及び低発現のC-G/C-Gから抽出したRNAを用いて解析を進めた。

2 型糖尿病と関連する環境因子の一つとして喫煙に着目した。一般住民 2000 名について、遺伝子としての SNP-420/-358 ハプロタイプ、および環境因子の一つである喫煙と血中レジスチンとの関連を遺伝疫学的に解析した。その結果、現在の喫煙がある場合に、喫煙歴なしに比して血中レジスチンは高かった (図 1)。また、SNP-420/-358 ハプロタイプで解析すると、G-A/G-A の場合に、血中レジスチンは最も高かった。SNP-420/-358 ハプロタイプと喫煙の相互作用をみると、喫煙に伴う血中レジスチンの上昇は、G-A/G-A において最も強く認めた (図 2)。一方、G-G/C-G では、この関連は弱かった。さらに、年齢、性、BMI をマッチさせた G-A/G-A もしくは C-G/C-G、喫煙の有無の 4 群について、全血細胞のレジスチン mRNA を RT-PCR を用いて定量した。その結果、G-A/G-A において、喫煙者は非喫煙者と比べてレジスチン mRNA が高かった。一方、C-G/C-G においては、この関連を認めなかった。以上より、レジスチン SNP-420、SNP-358 ハプロタイプの G-A/G-A と喫煙は、遺伝子・環境因子相互作用により、レジスチン mRNA 及び血中濃度を高めることが想定された。

2 型糖尿病は、発症前にインスリン抵抗性が先行する。インスリン分泌が代償している間は、血糖は上昇しないが、代償が効かなくなると上昇する。代償性インスリン分泌が低下してくるとインスリン抵抗性が正しく評価できなくなる。したがって、より早期のインスリン抵抗性を評価するためには、正常耐糖能者を解析する必要がある。そこで、正常耐糖能者について、ハプロタイプと喫煙の有無で、インスリン抵抗性との関連を解析した。その結果、正常耐糖能者では、G-

A/G-A と喫煙がインスリン抵抗性に対し交互作用を認めた。

以上より、レジスチン SNP-420、SNP-358 のハプロタイプと喫煙は、レジスチン mRNA 及び血中濃度を高め、正常耐糖能者ではインスリン抵抗性と関連することが示唆された。これは、遺伝子・環境因子相互作用を認めた数少ない例の一つと言える。G-A/G-A の場合には、禁煙することにより血中レジスチンが低下し、インスリン抵抗性が改善する可能性がある。遺伝子型に基づく環境因子への介入のモデルとして、高精度医療につながる事が期待できる。今後は、前向きスタディにより介入の効果を証明するとともに、SNP 配列特異的な転写調節 landscape の変化及び標的遺伝子の同定を進め、分子機構を解明していく必要がある。

図 1

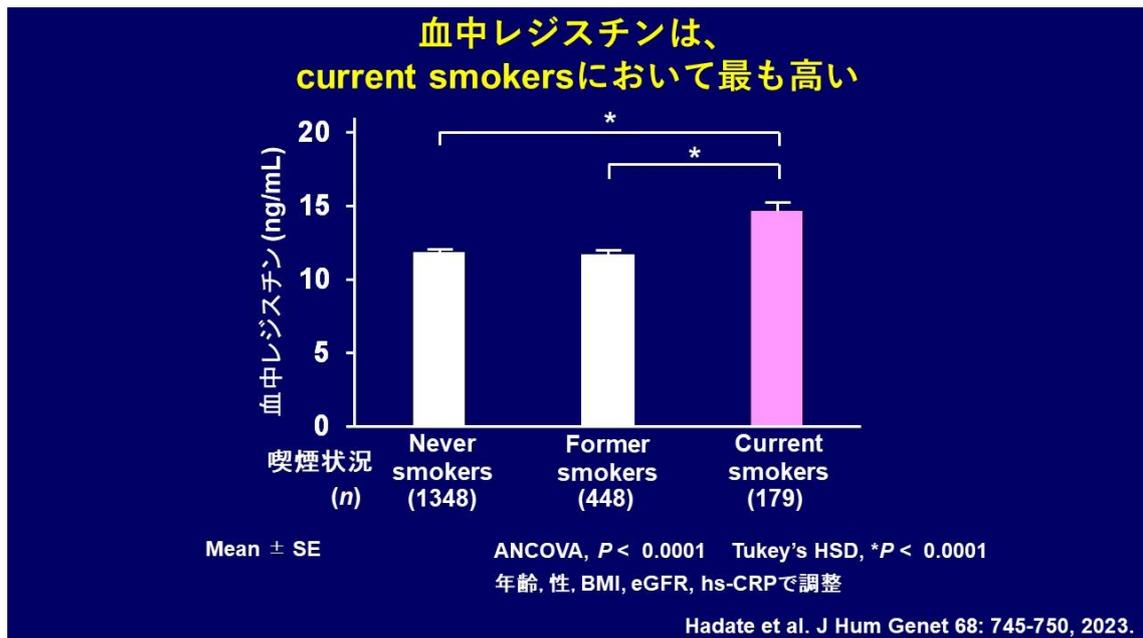
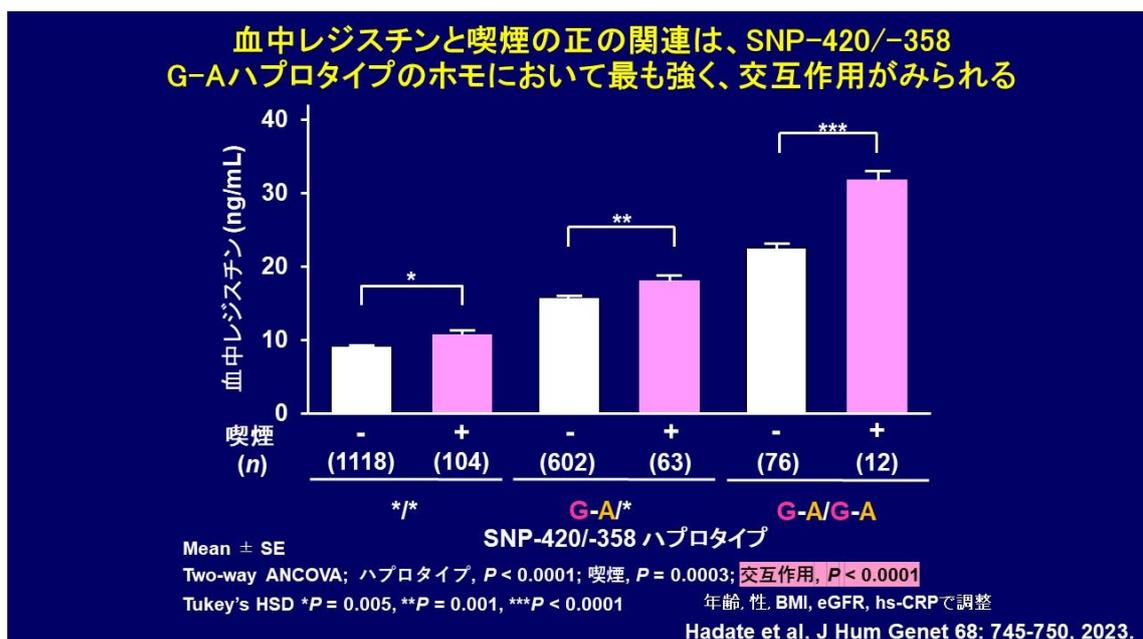


図 2



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1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 Hadate Toshimi, Kawamura Ryoichi, Tabara Yasuharu, Maruyama Koutatsu, Takakado Misaki, Ikeda Yosuke, Ohashi Jun, Takata Yasunori, Saito Isao, Osawa Haruhiko	4. 巻 68
2. 論文標題 Positive association between serum resistin and smoking was strongest in homozygotes of the G-A haplotype at c.-420 C>G and c.-358 G>A in RETN promoter: the Toon Genome Study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 745 ~ 750
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s10038-023-01176-8	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 大澤 春彦	4. 巻 86
2. 論文標題 ヒトの血中レジスチン調節機構の解明 SNP, epigenetics, 遺伝子・環境因子相互作用と体質	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 日本体質医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 55-61
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 大澤 春彦, 川村 良一, 高田 康徳	4. 巻 19
2. 論文標題 ヒトにおける血中レジスチン調節機構の解明 インスリン抵抗性のprecision medicineを目指して	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本糖尿病情報学会誌	6. 最初と最後の頁 25-31
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 羽立 登志美, 川村 良一, 田原 康玄, 丸山 広達, 高門 美沙季, 池田 陽介, 斉藤 功, 高田 康徳, 大澤 春彦
2. 発表標題 NGTでは、レジスチンSNP-420 G/Gと喫煙はインスリン感受性低下と関連する
3. 学会等名 日本糖尿病学会中国四国地方会第61回総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大澤 春彦
2. 発表標題 ヒトの血中レジスチン調節機構の解明 SNP、epigenetics、遺伝子・環境因子相互作用と体質
3. 学会等名 第73回日本体質医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 羽立登志美、川村良一、田原康玄、丸山広達、高門美沙季、池田陽介、斉藤 功、高田康徳、大澤春彦
2. 発表標題 喫煙は、境界型または糖尿病において、血中レジスチン高値、及びインスリン抵抗性と関連する
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 羽立登志美、川村良一、高田康徳、田原康玄、丸山広達、高門美沙季、池田陽介、斉藤 功、大澤春彦
2. 発表標題 レジスチンSNP-420、SNP-358の遺伝子型の組合せと喫煙は、レジスチンmRNA及び血中濃度と関連する【東温ゲノムスタディ】
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 羽立登志美、川村良一、田原康玄、丸山広達、高門美沙季、池田陽介、斉藤功、高田康徳、大澤春彦
2. 発表標題 BMI25未満のNGTにおいて、レジスチンのハプロタイプはインスリン抵抗性と関連する【東温ゲノムスタディ】
3. 学会等名 日本糖尿病学会中国四国地方会第59回総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 羽立登志美、川村良一、高田康德、田原康玄、丸山広達、高門美沙季、池田陽介、斉藤 功、大澤春彦
2. 発表標題 レジスチンSNP-420/-358ハプロタイプと喫煙は相互に血中レジスチンを高める
3. 学会等名 日本糖尿病学会中国四国地方会第58回総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>愛媛大学大学院医学系研究科 分子・機能領域 糖尿病内科学講座  <a href="https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/clab/">https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/clab/</a>  愛媛大学大学院医学系研究科分子・機能領域糖尿病内科学講座  <a href="https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/clab/">https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/clab/</a></p>
---

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
研究分担者	高田 康德  (Takata Yasunori)  (20432792)	愛媛大学・医学系研究科・准教授   (16301)	
研究分担者	川村 良一  (Kawamura Ryoichi)  (90533092)	愛媛大学・医学系研究科・講師   (16301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------