

機関番号：32202

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2009～2010

課題番号：21687021

研究課題名（和文）低頻度の遺伝子多型に着目した血中脂質量多様性の人類遺伝学的研究

研究課題名（英文）Genetic anthropology of the blood lipid level

研究代表者

中山一大（NAKAYAMA KAZUHIRO）

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：90433581

研究成果の概要（和文）：

本研究では、生活習慣の異なるアジア・太平洋地域の人類集団について、血清脂質量と関連する遺伝子多型・変異を調査し、その人類生物学的意義を探った。その結果、1) 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の多型が血中脂質量に及ぼす効果が、モンゴル人と日本人で劇的に異なっており、これが食事の不飽和脂肪酸組成の差異に起因する可能性を見出した。2) 高脂血症抵抗性多型である MLXIPL 遺伝子の Gln241His 多型が、中央アジアの遊牧民族を起源とする幾つかの人類集団で高い頻度で存在しており、脂質がエネルギー源として優勢な遊牧生活において、同多型が適応的であることを示した。3) 各種リポタンパク質受容体としてはたらくスカベンジャー受容体ファミリー遺伝子の再塩基配列決定を通して、タイ人では東アジア人・オセアニア人と比して多型・変異サイトが豊富に存在していることが明らかになった。これにより、マラリア抵抗性と脂質代謝との関連性についての新たな知見を加えた。4) さらに、血清脂質を標的とした関連解析では、性別や年齢に加えて内臓脂肪蓄積の程度を一致させた集団を用いることで、遺伝子多型・変異を効率よく検出できることを示した。

研究成果の概要（英文）：

To elucidate anthropological significance of genetic variation for blood lipid level in humans, over 20,000 individuals from 5 Asian and Oceanian groups were investigated for common and rare variants of lipid associated genes. 1) Effects of FADS (fatty acid desaturase) gene variants on blood lipid level were dramatically varied between Mongolians and Japanese. Differences in dietary intake of unsaturated fatty acid would explain the variation in phenotypic effects of the FADS gene variants. 2) Anti-hypertriglyceridemic MLXIPL Gln241His variant was found with high frequencies in central Asians who can be traced back to nomadic pastoralists. Gln241His variant might have been significant for utilization of carbohydrates and fats in nomadic pastoralists. 3) Resequencing of Scavenger receptor class B gene family revealed excess of rare variants among Thai individuals. This suggested a possible link between genetic variation of lipid metabolism and malaria resistance. 4) Additionally, the present study showed that in an association study of blood lipid level, adjustment for visceral fat accumulation can improve sensitivity of detecting effects of genetic variants.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2010年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
年度			
総計	8,500,000	2,550,000	11,050,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：人類学

キーワード：遺伝子、多型、人類、進化、中性脂肪、コレステロール

1. 研究開始当初の背景

ヒトの血漿中に含まれる脂質成分、主に中性脂肪とコレステロールは、動脈硬化症の重大な危険因子であることに専ら注目が集まっているが、中性脂肪は余剰のエネルギーを貯蓄して長期の飢餓状態に耐え抜くのに必須であり、コレステロールはビタミンD・胆汁酸・ステロイドホルモン合成の出発物質という重要な役割を担っている。ヒトの進化・環境適応という視点から、血中脂質量に影響を与える遺伝子多型の生物学的意義を探索することは重要かつ興味につきない命題である。

申請者はアジア・太平洋地域の諸民族における生活習慣病感受性遺伝子多型の分布と、その生理的ならびに進化的意義についての調査を行い、その中で、日本・モンゴル・中国・タイ・パラオの人類集団の間で血中脂質の濃度に明瞭な差があり、モンゴル人がもつとも低い血中脂質量を示すことに注目した。モンゴル人の食生活は高飽和脂肪酸・高コレステロール・低食物繊維・低ビタミンと、高脂血症の増悪因子が揃っているのにも関わらず、血中脂質量が他の民族と比較して低いことは驚くべき現象である。

ヨーロッパ人を対象としたゲノムワイド

関連解析研究で同定された血清中性脂肪関連多型である *MLXIPL* の Gln241His 多型は、申請者が調査したアジア・太平洋地域の人類集団においても血中中性脂肪量と非常に強く相関することが明らかになった。さらに Gln241His 多型の頻度を世界各地の民族集団間で比較したところ、低中性脂肪量と関連する His アレルの頻度は概ね 10% 程度であったが、モンゴル人においては 23% と 2 倍以上の頻度で存在していた。また、パラオ人では 3% と低く、集団間での中性脂肪量の差異と矛盾しない分布を示していることが明らかになった。*MLXIPL* の例は、集団間での血中脂質特性の多様性の形成に、文化・習慣の差のみならず遺伝的素因も関与している可能性を提示するものである。

従来、生活習慣病のようなありふれた疾患の感受性遺伝子多型は、集団内で比較的頻度の高いもの、すなわち common variant であると想定されてきた。この概念は、疾患感受性のみならず、人類集団の表現型の差異の遺伝的基盤を説明するに際にも、暗黙的に適用されてきたように思える。ところが、一連の研究で検出された common variant の表現型への寄与はいずれも微弱だったために、頻度は低い寄与がより大きい rare variant の

集積に注目が集まる結果となった。とはいえ、一般集団中での血中脂質量への rare variant の寄与については未解明の部分が多い。さらに、集団間での血中脂質量の差異への関与については全く不明である。

2. 研究の目的

本研究では、由来・生活習慣・脂質特性の異なるアジア・太平洋地域の人類集団について、脂質代謝に関わる主要な遺伝子群の塩基配列を再決定し、これまで明らかになっていなかった rare variant と血中脂質量との関連性を明らかにする。さらに、これらの多型を集団遺伝学的に解析することによって、血中脂質量に寄与する遺伝子の進化のダイナミックな挙動を捉え、自然選択やデモグラフィがヒトの表現型進化に与えた影響に迫る。

3. 研究の方法

研究対象として、以下の3つのDNAパネルを用いた。

パネル1：アジア・太平洋地域の人類集団 2,311人（内訳：日本人670人・モンゴル人1203人・タイ人212人。中国人388人・パラオ人119人）のDNA試料

パネル2：自治医科大学21世紀COEプログラムに登録された日本人約20,000人のDNA試料

パネル3：自治医科大学附属病院検診センターで、平成21年～22年度にかけて収集した人間ドック受診者約3000人のDNA試料

血清脂質関連遺伝子の多型・変異部位の検索には高解像度融解曲線解析（HRM）法およびPCR-ダイレクトシーケンシングを用いた。遺伝子型判定にはTaqMan法・HRM法を用いた。遺伝子型-表現型関連解析に

は直線重回帰分析法などを用いた。

4. 研究成果

（1）日本人・モンゴル人を対象とした *FADS1* 遺伝子多型と血清脂質の関連解析研究

FADS（脂肪酸不飽和化酵素）群は、不飽和脂肪酸の高度不飽和化を触媒する酵素群であり、11番染色体長腕にクラスターを形成して存在している。ヒト FADS 遺伝子（*FADS*）クラスター領域の遺伝子多型は、血中不飽和脂肪酸組成の多様性に関与しているのみならず、血中 LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪濃度に影響を与えることが、ゲノムワイド関連解析研究で示されている。FADS1 遺伝子近傍に存在する血中脂質関連多型について、日本人約15,000人、モンゴル人約1,200人のDNA試料を用いて血清中性脂肪・HDL コレステロール・LDL コレステロールとの関連解析を行った。その結果、FADS1 イントロン領域に存在する rs174547（T/C）多型のCアレルのコピー数が、日本人では高い中性脂肪濃度（ $P < 5E-6$ ）および低いHDL コレステロール濃度（ $P < 0.05$ ）と関連していた。一方、モンゴル人ではCアレルのコピー数は低いLDL コレステロール濃度と強い関連を示した（ $P < 5E-5$ ）。このように、同一の遺伝子多型が、一方の集団では動脈硬化症を増悪させる効果（高中性脂肪・低HDL コレステロール）を有するのにも、もう一方の集団ではむしろ好ましい効果（低LDL コレステロール）を持つことが示された。このような一見矛盾した観察が、果たして両集団間での周辺領域の他の多型とのハプロタイプ構造の差異によるものなのかを検証するべく、rs174547 周辺の多型パターンを両集団で調査したが、いずれの集団でも *FADS* 遺伝子クラスターは単一の連鎖不平衡ブロックに存在しており、同ブロックに存在するハプロタ

イプもほぼ同一であることが明らかになった。

モンゴル人は日本人と比して獣肉の摂取量が多い一方、魚介類の摂取量が著しく少ない。それを反映して、モンゴル人と日本人では血中の $\omega 6$ 系および $\omega 3$ 系不飽和脂肪酸の含有量が異なっている。FADSは上記不飽和脂肪酸を出発材料としてエイコサペンタエン酸やアラキドン酸など高度不飽和脂肪酸を合成する経路に関わっており、両集団での多型の効果の差異が、日常的に摂取する不飽和脂肪酸組成の民族差に起因している可能性が示された。

(2) アジア・太平洋地域の集団におけるスカベンジャー受容体ファミリー遺伝子の多型・変異検索

CD36やSCARB1などのスカベンジャー受容体は、動脈硬化惹起性リポタンパク質である酸化LDLを認識する膜結合型タンパク質で、マクロファージの泡沫化と動脈硬化巣の形成に重要な役割を果たしている。また、スカベンジャー受容体は酸化LDL以外の各種リポタンパク質や、脂肪酸、コラーゲンなどの多様なリガンドの認識し、エネルギー代謝、味蕾における脂肪味の認識やマラリア原虫の感染・増殖などの様々な生物学的プロセスにも関与している事が示唆されている。これまでに、日本人・モンゴル人・タイ人・パラオ人各95人について再塩基配列決定が終了しており、合計26サイトの多型部位を同定した。そのうち15サイトについては新規に同定されたもので、各集団におけるマイナーアレル頻度が5%以下のレアバリエーションであった。興味深いことに、両遺伝子ともタイ人集団において多型サイトの出現率が最も高く、非同義多型およびフレームシフトにつながる欠失多型のサイト数もタイ人で最も多か

った。CD36およびSCARB1は、それぞれ個別の経路でマラリア原虫の感染・増幅に利用されていることから、これらのバリエーションが同集団におけるマラリア抵抗性に関与している可能性が考えられる。

(3) 高脂血症抵抗性遺伝子多型 *MLXIPL* Gln241His の調査

MLXIPL 遺伝子 (*MLXIPL*) の Gln241His 多型はヨーロッパ人におけるゲノムワイド関連解析研究で同定された血清中性脂肪濃度関連 SNP である。申請者は、同多型が日本人においても血清中性脂肪濃度と強く関連することを以前に報告した。さらに、東アジア・東南アジアの生活習慣の異なる4集団の解析を通して、Gln241His がこれらの集団においても血清中の中性脂肪濃度と関連することを明らかにしている。本課題では、世界各地の人類集団における His アレルの頻度を引き続き調査した。

Gln241His の遺伝子型を直接決定した集団では、アフリカ (0.05)、南アジア (0.06)、東アジア (0.10)、東南アジア (0.12)、オセアニア (0.02) と His アレルの頻度は概ね 0.1 程度であったが、中央アジア (モンゴル人、チベット人、ウイグル人) においては例外的により高い頻度で見いだされた (0.23)。さらに Human Genome Diversity Panel (HGDP) に含まれるアジア人集団を調査したところ、シベリアの遊牧民族に出自をもつヤクート族で 0.30 と高頻度で観察されたほか、中国の少数民族であるホジェン族 (0.22)、シボ族 (0.33)、イ族 (0.35)、ナシ族 (0.50) などの人類集団で軒並み高い頻度で検出された。イ族およびナシ族は雲南省などの中国南東部に生活しており、その起源はチベット高原で遊牧生活を営んでいた羌族にあるとされている。オロチェン族、シ

ボ族、ダウール族、ホジェン族、トゥ族、モンゴル族などアルタイ諸語族に属する集団を統合すると、His アレルの頻度は0.17であり、ナシ族・イ族を除いたシノ・チベット諸語族(0.06)より高い頻度を有していた。現在の中央アジアおよび東アジアの人類集団でHis アレルの頻度が高いことは、かつてこの地域で遊牧生活を営んでいた祖先集団において、His アレルの頻度が上昇したことを示唆している。

MLXIPL は肝臓における糖利用および脂肪酸合成を統合的に制御しており、Gln24His は余剰のグルコースを脂肪酸に変換する効率を低下させることにより、中性脂肪の低下に結びついているものと考えられる。この点を考慮すると、祖先型であるGln型はHis型と比してより“儉約的”であると考えられる。遊牧生活を生業としてきた人類集団でHis型が高頻度で見いだされることは、食物からの脂質の摂取がエネルギー源として重要な生活様式の人類集団において、糖を効率よく利用する上で適応的意義があったものと推測される。

(4) 内臓脂肪蓄積が血清脂質遺伝子多型の効果に及ぼす影響について

近年、アジア地域の諸外国でも重大な社会的健康問題として関心が集まりつつあるメタボリック症候群では、内臓脂肪蓄積が脂質異常をはじめとした代謝異常の惹起に中心的役割を果たしていると考えられている。内臓脂肪蓄積の個人間変動の大部分は生活習慣の差異に起因しているものと考えられることができる。そこで、生体インピーダンス法で臍近傍の内臓脂肪蓄積量を定量した日本人約642人分のDNA試料を用いて、内臓脂肪蓄積が血清脂質関連多型の効果に与える影響について検証した。性・年齢・喫煙歴

で調節した重回帰分析では、内臓脂肪蓄積量はトリグリセライド量・HDLコレステロール量と強い関連を認め、その効果は腹囲径・BMIのそれと比してより強力であった。血清中性脂肪量と関連を認めず7座位(*MLXIPL*, *ANGPTL3*, *TRIB1*, *LPL*, *APOA5*, *FADS1*, *GCKR*)のSNPの表現型への効果について、内臓脂肪蓄積量・腹囲径・Body Mass Indexのそれぞれで調整した重回帰モデルを比較したところ、7SNP中5SNPで、内臓脂肪蓄積量で調整したモデルにおいてト中性脂肪料との関連が最も強く検出された。

これにより、血清脂質量を標的とした関連解析研究において、内臓脂肪蓄積量を用いて肥満度の調節をすることにより、より高感度で遺伝子多型の効果が検出できることが期待される結果が得られた。

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6件)

1. Nakayama K, Bayasgalan T, Tazoe F, Yanagisawa Y, Gotoh T, Yamanaka K, Ogawa A, Munkhtulga L, Chimedregze U, Kagawa Y, Ishibashi S, Iwamoto S; Jichi Medical University Promotion Team of a Large-scale Human Genome Bank for All over Japan (2010) A single nucleotide polymorphism in the *FADS1/FADS2* gene is associated with plasma lipid profiles in two genetically similar Asian ethnic groups with distinctive differences in lifestyle. *Human Genetics*. 127:685-90.
2. Nakayama K, Shotake T, Takenaka O, Ishida T (2010) Variations in the coding region of the agouti signaling protein gene do not explain agouti/non-agouti phenotypes in macaques. *Journal of Mammalian Evolution* 17: 211-4.
3. Ogawa Y, Nakayama K, Yanagisawa Y, Gotoh T, Yamanaka Y, Iwamoto S, Miyashita H (2010) A preliminary study

on the effects of visceral fat accumulation on plasma lipid concentration and the lipid associated SNPs in Japanese. *DNA polymorphism* 18:246-249

4. Nakayama K, Yanagisawa Y, Gotoh T, Yamanaka K, Ogawa Y, Iwamoto S, Mukhtulga L, Koda Y, Ishida T, Kagawa Y (2010) Anthropological insights into the genetic diversity of MLXIPL (2010) *DNA polymorphism* 237-41.
5. Munkhtulga L, Nagashima S, Nakayama K, Utsumi N, Yanagisawa Y, Gotoh T, Omi T, Kumada M, Zolzaya K, Lkhagvasuren T, Kagawa Y, Fujiwara H, Hosoya Y, Hyodo M, Horie H, Kojima M, Ishibashi S, Iwamoto S (2010) Regulatory SNP in the RBP4 gene modified the expression in adipocytes and associated with BMI. *Obesity* (Silver Spring). 18:1006-14.
6. Nakayama K, Bayasgalan T, Yamanaka K, Kumada M, Gotoh T, Utsumi N, Yanagisawa Y, Okayama M, Kajii E, Ishibashi S, Iwamoto S; Jichi Community Genetics Team(JCOG) (2009) Large scale replication analysis of loci associated with lipid concentrations in a Japanese population. *Journal of Medical Genetics* 46:370-4.

[学会発表] (計12件)

1. 宮下洋 撓骨動脈トノメトリ波形解析から得られる血管年齢指標の検討 第22回血圧管理研究会 2010年12月4日 京都
2. Panichareon B Association study of polymorphisms in *CTXN3* gene with schizophrenia in Thai population DNA多型学会第19回学術集会 2010年11月18日~19日 三島市
3. 石塚 裕美 高脂血症感受性遺伝子 *TRIB1* は高血圧とも関連する。DNA多型学会第19回学術集会 2010年11月18日~19日 三島市
4. Kazuhiro Nakayama Resequencing of human type B scavenger receptor genes in Asia-Pacific populations The American Society of Human Genetics 60th annual meeting 2010年11月2-6日 Washington, DC
5. 中山一大 アジア・オセアニアにおけるスカベンジャー受容体ファミリー遺伝子の多様性 第64回日本人類学会大会 2010年10月1~3日 伊達市

6. 岩本禎彦 糖感受性エレメントの *TRIB1* 遺伝子脂質異常症関連領域へのマッピングと遺伝子機能解析 第17回日本遺伝子診療学会大会 2010年8月5~7日 津市
7. 小川歩美 日本人内臓脂肪ゲノムバンクを用いた血清脂質量関連多型の検証 日本DNA多型学会第18回学術集会 2009年11月20日 久留米市
8. 中山一大 脂質代謝に関わる転写因子 *MLXIPL* の遺伝的多様性とその人類生物学的意義 日本DNA多型学会第18回学術集会 2009年11月20日 久留米市
9. Kazuhiro NAKAYAMA Evolutionary insights into a common genetic variant for dyslipidemia, Gln241His variant of *MLXIPL* The American Society of Human Genetics 59th Annual Meeting 2009年10月20-24日, Honolulu, USA
10. 中山一大 ヒト脂質異常症と関連する *MLXIPL* 遺伝子の多様性とその人類学的意義. 第63回日本人類学会大会 2009年10月3日 東京
11. 中山一大 アジア人集団における *FADS1/FADS2* および *ABCG5/ABCG8* 遺伝子多型の血清脂質量への寄与の検討. 第16回日本遺伝子診療学会大会. 2009年8月1日, 札幌市
12. Kazuhiro NAKAYAMA Large scale association analysis of SNPs associated with lipid concentrations in 21,010 Japanese individuals. European Human Genetics Conference 2009, 2009年5月23-26日, Vienna, Austria

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中山一大 (NAKAYAMA KAZUHIRO)

研究者番号 : 90433581