

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22370084

研究課題名（和文） オセアニア集団における肥満・脂質代謝・糖代謝関連変異の探索と儉約遺伝子仮説の検証

研究課題名（英文） A study on polymorphisms associated with obesity and lipid profile in the Oceanic populations

研究代表者

大橋 順 (OHASHI JUN)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：80301141

研究成果の概要（和文）：オセアニア集団を対象に、beta2 アドレナリン受容体遺伝子 (ADRB2) 多型と肥満との関連を検討し、ADRB2 遺伝子上流領域に存在する単一塩基多型 (SNP) rs34623097 が肥満と強い関連を示すことを見出した。

ドーパミン D4 受容体遺伝子 (DRD4) の反復配列多型 (VNTR) を解析した。台湾先住民、オセアニア人集団の VNTR アリル頻度分布から、ポリネシア人の祖先は東南アジアに起源をもち、メラネシアにおいて先住民と混血したと推察された。

TRIB2 遺伝子の 3' 非翻訳領域に位置する rs1057001-T アリルが、性別、年齢、BMI で調整した内臓脂肪面積の増加と関連していることを見出した。

研究成果の概要（英文）：A SNP located upstream of *ADRB2*, rs34623097, showed the strongest association with obesity in a logistic regression analysis adjusted for age, sex, and population ($P = 5.6 \times 10^{-4}$, odds ratio [OR] = 2.5, 95% confidence interval [CI] = 1.5-4.2).

To study the origin of Polynesians and the gene flow from Polynesian ancestors to indigenous Melanesians, a 48-bp variable number of tandem repeat (VNTR) in exon 3 of the dopamine D4 receptor (*DRD4*) gene was investigated for six Austronesian (AN)-speaking populations. Our results provide evidence of gene flow from Polynesian ancestors to indigenous Melanesians while Polynesian ancestors passed through Melanesia.

A candidate gene association analysis on 11 metabolic traits of 5,810 East Asians revealed that rs1057001, a T/A transversion polymorphism in 3'untranslated region (UTR) of *TRIB2*, was strongly associated with visceral fat area (VFA) and waist circumference adjusted for body mass index ($P = 2.7 \times 10^{-6}$ and $P = 9.0 \times 10^{-6}$, respectively).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
2011年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2012年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
年度			
年度			
総計	15,300,000	4,590,000	19,890,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：人類学・自然人類学

キーワード：オセアニア、肥満、多型、儉約遺伝子、BMI、脂質代謝、オーストロネシア語族

1. 研究開始当初の背景

| (1) 近年、オセアニア地域において、肥満割

合が急増しており、トンガでは成人の6割以上が肥満と報告されている (Duarte et al. 2003)。また、同地域では、メタボリック症候群も増加しており、深刻な健康問題となっている。その主な原因は、急速な近代化に伴う、生活様式・食事習慣の変化と考えられるが (Mascie-Taylor, 1993)、オセアニア人に特徴的な遺伝子の存在も指摘されている。すなわち、食物供給が不安定であった過去においては、エネルギーを効率よく利用できる俊約遺伝子 (アレル) が自然選択上有利であり、その遺伝子頻度が集団中で増加してきたが、食物が安定的に供給される現在においては、俊約遺伝子を有する個体ではエネルギーが過剰となるため、肥満や糖尿病が増加しているという考え (これを「エネルギー俊約遺伝子仮説」という [Neel, 1963 など]) である。しかし、いかなる遺伝子が、いかなるメカニズムで「俊約」を実現しているのかについては、まだよく理解されていない。

ヨーロッパ系集団において肥満との関連が確立している FTO 遺伝子変異は、本研究の対象であるオセアニア集団において、肥満とは関連しないことを報告している。したがって、オセアニア集団は、少なくとも肥満に関しては、ヨーロッパ系集団とは異なる関連多型を有する可能性が高く、オセアニア集団を対象とした関連研究により、新たな関連多型 (遺伝子) が同定される可能性は高いと考えた。

(2) 我々は、これまで、HLA 遺伝子や、ABO 遺伝子を遺伝マーカーとして利用し、オセアニアに居住する、オーストロネシア語族集団と非オーストロネシア語族集団との遺伝的近縁性、およびポリネシア集団の進化過程について研究してきた。主な成果を述べると、mtDNA を遺伝マーカーとして利用し、ポリネシア人 (トンガ人) の祖先は東南アジア (おそらく台湾) 起源であり、ポリネシアに到達する以前に、メラネシアにおいて、非オーストロネシア語族との相当な混血 (遺伝子流入) を経験していることを指摘した。さらに、トンガ人集団とギデラ族 (非オーストロネシア語を話すメラネシア原住民) に対するゲノムワイド SNP 解析を施行し、ポリネシア人の 70% がアジア人由来であり、残り 30% がメラネシア原住民由来であることを明らかにし、ポリネシア集団の進化を説明するモデルとして、「slow train model」が適切であることを見出している。

2. 研究の目的

我々は、これまでに、ヒト遺伝子多型の解析を通して、オセアニア集団間の遺伝的近縁性と、その進化過程について研究してきた。本研究では、

- (1) 前述のオセアニア集団の進化的・歴史的な特性を考慮した上で、我々が開発した、進化遺伝学的アプローチを用いることで、オセアニア集団において、肥満・脂質代謝・糖代謝と関連する遺伝子多型 (common variant, rare variant, コピー数多型など) を検出する。
- (2) 機能解析により、関連多型の機能的意義を明らかにする。
- (3) ポリネシア人の祖先集団において、エネルギーを効率よく利用できるタイプの遺伝子 (アレル) が増加したと考える、いわゆる「エネルギー俊約遺伝子仮説」の検証を行う。

3. 研究の方法

- (1) オセアニアのソロモン人集団 (75 検体) の候補 SNP 解析
① DigiTag2 アッセイを用いて、96 個の候補 SNP についてオセアニア人集団 (約 200 名) をタイピングする。
- (2) 進化遺伝学的アプローチによる、関連解析候補 SNP の絞り込み
① 解析対象のオセアニア人集団の中では、トンガ人集団の肥満割合が高い。各 SNP について、トンガ人集団と他の集団間で集団分化の指標である F_{st} を計算し、高い集団分化を示す SNP を決定する。
② 高い集団分化を示す SNP について、トンガ人集団で頻度の高いアレルを決定する。

(3) 関連解析

上記の(2)①で絞り込まれた SNP、および周辺遺伝子のリシーケンシングにより検出された多型について、オセアニア人集団 (800 名) を対象にした、肥満・脂質代謝・糖代謝との関連解析を行う。

(4) 機能解析

関連解析(3)によって有意な関連を示した SNP について、その機能的意義を調べる。
① プロモーター領域に位置する SNP について、リポーター遺伝子アッセイによりアレル間のプロモーター活性の違いを調べる。
② プロモーター領域に位置する SNP について、ゲルシフトアッセイによりアレル間の転写因子結合性の違いを調べる。

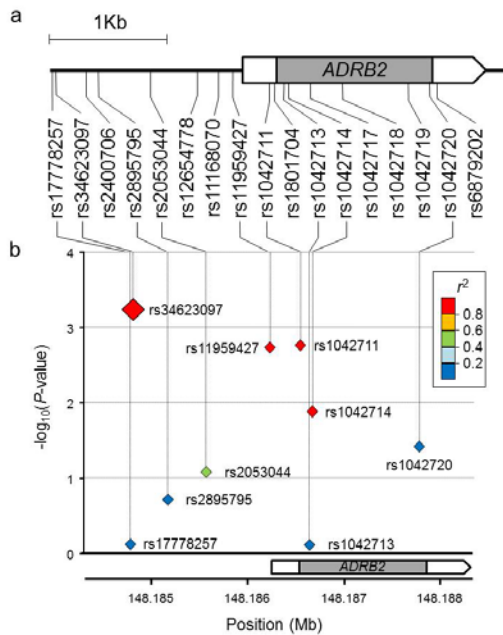
(5) 俊約遺伝子仮説の検証

アジア・オセアニア地域における関連アレルの地理的分布を調べ、その起源と伝達経路を調べる。

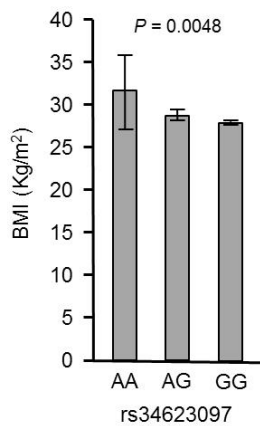
4. 研究成果

- (1) ADRB2 プロモーター領域多型と肥満との関連
① ADRB2 の変異スクリーニングにより 17 個の SNP を検出し、タグ SNP を含めて 9 個

の SNP の遺伝子型を決定した。多重ロジスティック回帰分析の結果、rs34623097 が最も強い肥満との関連を示した ($P = 5.6 \times 10^{-4}$, odds ratio [OR] = 2.5, 95% confidence interval [CI] = 1.5-4.2) (下図)。



rs34623097 の遺伝子型と BMI の共分散分析から、GG 遺伝型と比べて A アリルをもつごとに BMI 値が高くなることも見出した (下図)。

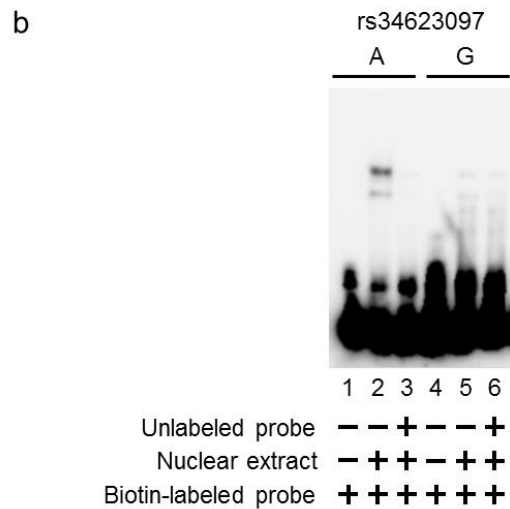
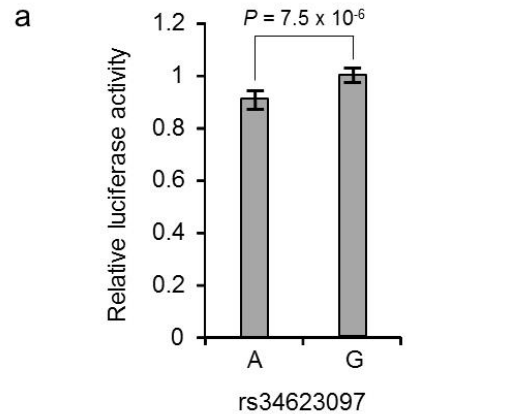


肥満や BMI と強い関連を示した rs34623097-A アリルは、以前から肥満との関連が報告されている 27Glu と連鎖不平衡の状態にあった。rs34623097-A や 27Glu などの、単独で関連を示す 5 つのアリルを独立変数として同時にロジスティック回帰分析に含めたところ、rs34623097 のみが肥満と有意な関連を示した。このことは、rs34623097-A アリルが一義的な肥満関連アリルであることを示唆している。先行研究においてモンゴロイド集団で報告されてきた 27Glu と肥満との関連は、rs34623097-A ア

リルと 27Glu との連鎖不平衡による二次的なものと結論した。

②リポーター遺伝子アッセイにおいて、rs34623097-A アリルは rs34623097-G アリルに比べて 10%低いプロモーター活性を示した (下図 a)。

③電気泳動移動度シフトアッセイにおいて、rs34623097-A アリルと特異的に結合する核内タンパクの存在が示唆された (下図 b)。

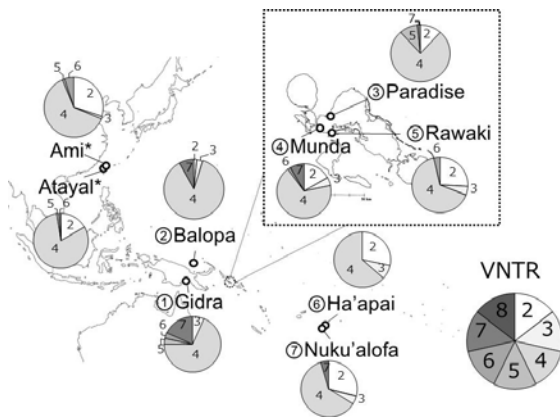


④rs34623097-A アリルは、オセアニア集団の他に、東アジア集団とフィンランド集団においても観察される。ADRB2 遺伝子の周辺 SNP を含めて連鎖不平衡解析を行った結果、肥満と関連する rs34623097-A アリルの連鎖不平衡は遠方まで及んではいなかった。rs34623097-A アリル頻度が高くないことから、rs34623097-A アリルは「儉約遺伝子仮説」を支持するとは言い難い。興味深いことに、rs34623097-A アリルおよび当該アリルが乗るハプロタイプを、ネアンデルタール人が保有していた。ネアンデルタール人と現生人類は、rs34623097-A アリル

を含んだ SNP ハプロタイプを共有していることが確認された。アフリカ系集団では rs34623097-A が観察されないことから、rs34623097-A アリルは現生人類の直接の祖先（ホモサピエンス）において誕生したのではなく、ネアンデルタール人ゲノムに生じた突然変異であり、両者の混血によって現生人類の祖先に遺伝子流入したと推察される。

(2) ドーパミン D4 受容体遺伝子 (DRD4) の反復配列多型 (VNTR) 解析

ポリネシア人集団の起源と、ポリネシア人の祖先集団からメラネシア先住民への遺伝子流入の可能性を調べるため、6つのオーストロネシア語族集団（トンガのポリネシア人2集団、ソロモン諸島のメラネシア人2集団、ソロモン諸島のマイクロネシア人1集団（キリバスからの移住集団）、パプアニューギニアのメラネシア人1集団）と1つの非オーストロネシア語族集団（パプアニューギニアのメラネシア人1集団）に属する計211名を対象に、ドーパミン D4 受容体遺伝子 (DRD4) のエクソン3領域に位置する48bpの繰返し単位をもつ反復配列多型 (VNTR) を解析した。①これらのオセアニア集団において、2回繰返し (2R) から7回繰返し (7R) までの6種類のアリルが観察された。いずれの集団においても、4回繰返し (4R) アリルの頻度が最も高かったが、2Rアリルと7Rアリルの頻度は集団間で大きく異なっていた（下図）。



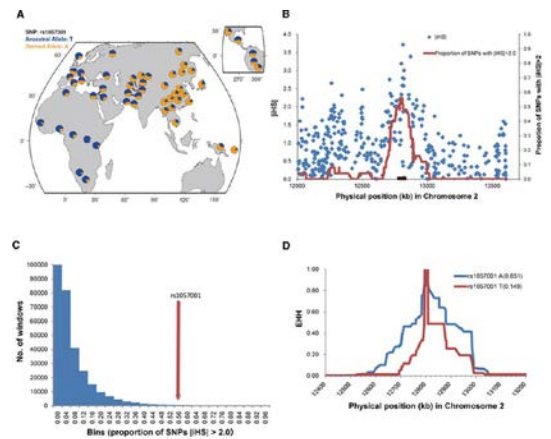
②トンガのポリネシア人2集団においては、2Rアリルの頻度が高く（28.3%と29.0%）、7Rアリルの頻度が低かった（4.8%）のに対し、パプアニューギニアのメラネシア人集団では7Rアリルの頻度が高く（18.3%）、2Rアリルは観察されなかった。ソロモン諸島のメラネシア人2集団ではほぼ中間の頻度を示した。興味深いことに、台湾先住民とトンガのポリネシア人集団のアリル頻度分布は似ており、ポリネシア人の祖先集団が東南アジア起源であるとする先行研究の結果とも符合するものであった。また、メラネシア人2集団に

2Rアリルが観察されることから（11.7%と16.7%）、ポリネシア人の祖先集団が、ソロモン諸島を経由してポリネシアに拡散する際に、メラネシア先住民との間で遺伝的交流があったと思われる。

(3) TRIB2 遺伝子 rs1057001-T アリルと内臓脂肪面積 (VFA) との関連

①5812名の東アジア人の解析により、TRIB2 遺伝子 rs1057001-T アリルが、性別、年齢、BMI で調整した内臓脂肪面積の増加と関連することを見出した ($P = 2.7 \times 10^{-6}$)。内臓脂肪とは腸間膜などの腹腔内臓器の周辺に蓄積する脂肪組織であり、遊離脂肪酸・アディポサイトカインなどのいわゆる“悪玉”因子を盛んに分泌するため、メタボリック症候群の重要な病態基盤と認識されている。内臓脂肪蓄積の遺伝率は30~50%程度で、明らかな遺伝的素因の関与が認められるが、その基盤となる遺伝子は謎に包まれており、さらには、なぜ内臓脂肪の蓄積に個人差が存在するのかについて明確な回答は得られていない。本成果により、内臓脂肪の個人間差に与える遺伝因子の影響に関する理解が進むと期待される。

②TRIB2 遺伝子周辺のゲノム情報を精細に解析することによって、東アジア人の祖先集団において、VFAの減少と関連するrs1057001-Aアリルが正の自然淘汰の作用を受けた痕跡を見出した（下図）。



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20件）

- (1) Naka I, Hikami K, Nakayama K, Koga M, Nishida N, Kimura R, Furusawa T, Natsuhara K, Yamauchi T, Nakazawa M, Ataka Y, Ishida T, Inaoka T, Iwamoto S, Matsumura Y, Ohtsuka R, Tsuchiya N,

- Ohashi J. A functional SNP upstream of the beta-2 adrenergic receptor gene (ADRB2) is associated with obesity in Oceanic populations. *International Journal of Obesity* (in press). doi: 10.1038/ijo.2012.206. 査読有
- (2) Nakayama K, Ogawa A, Miyashita H, Tabara Y, Igase M, Kohara K, Miki T, Kagawa Y, Yanagisawa Y, Katashima M, Onda T, Okada K, Fukushima S, Iwamoto S. Positive natural selection of TRIB2, a novel gene that influences visceral fat accumulation, in East Asia. *Hum Genet* 2013;132:201-217. 査読有
- (3) Furusawa T, Naka I, Yamauchi T, Natsuhara K, Eddie R, Kimura R, Nakazawa M, Ishida T, Inaoka T, Matsumura Y, Ataka Y, Ohtsuka R, Ohashi J (2013) Hypertension Susceptibility Gene Prevalence in the Pacific Islands and Associations with Hypertension in Melanesia. *Journal of Human Genetics* 58: 142-149. 査読有
- (4) Onuma H, Tabara Y, Kawamura R, Ohashi J, Nishida W, Takata Y, Ochi M, Nishimiya T, Kawamoto R, Kohara K, Miki T, Osawa H (2013) Plasma resistin is associated with single nucleotide polymorphisms of a possible resistin receptor, the decorin gene, in the general Japanese population. *Diabetes* 62: 649-652. 査読有
- (5) Naka I, Ohashi J, Kimura R, Furusawa T, Yamauchi T, Nakazawa M, Natsuhara K, Ataka Y, Nishida N, Ishida T, Inaoka T, Matsumura Y, Ohtsuka R (2012) DRD4 VNTR polymorphism in Oceanic populations. *Anthropological Science* 120: 151-155. 査読有
- (6) Panichareon B*, Nakayama K*, Iwamoto S, Thurakitwannakarn W, Sukhumsirichart W. Association of CTXN3-SLC12A2 polymorphisms and schizophrenia in a Thai population. *Behav Brain Funct* 2012;8:27 *共筆頭. 査読有
- (7) Panichareon B* , Nakayama K* , Thurakitwannakarn W, Iwamoto S, Sukhumsirichart W. OPCML gene as a schizophrenia susceptibility locus in Thai population. *J Mol Neurosci* 2012;46:373-377 *共筆頭. 査読有
- (8) Japanese Archipelago Human Population Genetics Consortium (Consortium members: Jinam T, Nishida N, Hirai M, Kawamura S, Oota H, Umetsu K, Kimura R, Ohashi J, Tajima A, Yamamoto T, Tanabe H, Mano S, Suto Y, Kaname T, Naritomi K, Yanagi K, Niikawa N, Omoto K, Tokunaga K, Saitou N (2012) The history of human populations in the Japanese Archipelago inferred from genome-wide SNP data with a special reference to the Ainu and the Ryukyuan populations. *Journal of Human Genetics* 57: 787-795. 査読有
- (9) Nakayama K, Yanagisawa Y, Ogawa A, Ishizuka Y, Munkhtulga L, Charupoonphol P, Supannatas S, Kuartei S, Chimedregzen U, Koda Y, Ishida T, Kagawa Y, Iwamoto S. High prevalence of an anti-hypertriglyceridemic variant of the MLXIPL gene in Central Asia. *J Hum Genet* 2011;56:828-833. 査読有
- (10) Naka I, Nishida N, Ohashi J (2011) No evidence for strong recent positive selection favoring the 7 repeat allele of VNTR in the DRD4 gene. *PLoS One* 6: e24410. 査読有
- (11) Myles S, Lea RA, Ohashi J, Chambers GK, Weiss JG, Hardouin E, Engelken J, Macartney-Coxson DP, Eccles DA, Naka I, Kimura R, Inaoka T, Matsumura Y, Stoneking M (2011) Testing the thrifty gene hypothesis: the Gly482Ser variant in PPARGC1A is associated with BMI in Tongans. *BMC Medical Genetics* 12: 10. 査読有
- (12) Furusawa T, Naka I, Yamauchi T, Natsuhara K, Kimura R, Nakazawa M, Ishida T, Nishida N, Eddie R, Ohtsuka R, Ohashi J (2011) The serum leptin level and body mass index in Melanesian and Micronesian Solomon Islanders: Focus on genetic factors and urbanization. *American Journal of Human Biology* 23: 435-444. 査読有
- (13) Ohashi J, Naka I, Tsuchiya N (2011) The impact of natural selection on an ABCC11 SNP determining earwax type. *Molecular Biology and Evolution* 28: 849-857. 査読有
- (14) Nakayama K, Bayasgalan T, Tazoe F, Yanagisawa Y, Gotoh T, Yamanaka K, Ogawa A, Munkhtulga L, Chimedregze U, Kagawa Y, Ishibashi S, Iwamoto S. 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. *Hum Genet* 2010;127:685-690. 査読有
- (15) Furusawa T, Naka I, Yamauchi T, Natsuhara K, Kimura R, Nakazawa M, Ishida T, Inaoka T, Matsumura Y, Ataka Y, Nishida N, Tsuchiya N, Ohtsuka R,

- Ohashi J (2010) The Q223R polymorphism in LEPR is associated with obesity in Pacific Islanders. *Human Genetics* 127: 287-294. 査読有
- (16) 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. Regulatory SNP in the RBP4 gene modified the expression in adipocytes and associated with BMI. *Obesity* (Silver Spring) 2010;18:1006-1014. 査読有
- (17) Nakayama K, Shotake T, Takenaka O, Ishida T. Variations in the coding region of the agouti signaling protein gene do not explain agouti/non-agouti phenotypes in macaques. *J Mammal Evol* 2010;17:211-214. 査読有
- (18) Onuma H, Tabara Y, Kawamoto R, Shimizu I, Kawamura R, Takata Y, Nishida W, Ohashi J, Miki T, Kohara K, Makino H, Osawa H (2010) The GCKR rs780094 polymorphism is associated with susceptibility of type 2 diabetes, reduced fasting plasma glucose levels, increased triglycerides levels, and lower HOMA-IR in Japanese population. *Journal of Human Genetics* 55: 600-604. v
- (19) Onuma H, Tabara Y, Kawamura R, Tanaka T, Ohashi J, Nishida W, Takata Y, Ochi M, Yamada K, Kawamoto R, Kohara K, Miki T, Makino H, Osawa H (2010) A at Single Nucleotide Polymorphism-358 Is Required for G at -420 to Confer the Highest Plasma Resistin in the General Japanese Population. *PLoS One* 5(3): e9718. 査読有
- (20) Osawa H, Tabara Y, Ohashi J, Kawamura R, Onuma H, Makino H (2010) Is rs34861192 or rs1862513 a more promising variant for determining plasma resistin in an aged Japanese population? *Diabetologia* 53: 795-797. 査読有

[学会発表] (計7件)

- (1) 中伊津美, 他、 $\beta 2$ アドレナリン受容体遺伝子(ADRB2) 上流領域 SNP の進化遺伝学的解析、日本人類学会第 66 回大会、2012 年 11 月 04 日、慶応大学日吉キャンパス、日吉、神奈川県
- (2) 中伊津美, 他、トンガ人集団における LPL 遺伝子多型と HDL コレステロールとの関連、日本人類遺伝学会第 57 回大会、2012 年 10 月 25 日、新宿、東京
- (3) Naka et al., Significant association of LPL polymorphisms with

HDL-cholesterol level in Tongan adults, The American Society of Human Genetics 62th Annual Meeting, 2012 年 11 月 09 日, San Francisco, CA, USA

- (4) 中伊津美, 他、オセアニア集団における DRD4 遺伝子 VNTR 多型の解析、日本人類遺伝学会第 56 回大会、2011 年 11 月 11 日、幕張、千葉
- (5) 中伊津美, 他、オセアニア集団における β アドレナリン受容体プロモーター多型と肥満との関連、日本人類学会第 65 回大会、2011 年 11 月 4 日、那覇、沖縄
- (6) Naka et al., The VNTR polymorphism of the dopamine D4 receptor (DRD4) gene in Oceanic populations. The American Society of Human Genetics 60th Annual Meeting, The American Society of Human Genetics 60th Annual Meeting, 2011 年 11 月 4 日, Washington, USA
- (7) Naka et al., Significant association of ADRB2 Glu27Gln polymorphism with triglyceride level, The American Society of Human Genetics 61th Annual Meeting, 2011 年 10 月 14 日, Montreal, Canada

[その他]

ホームページ等

<http://www.md.tsukuba.ac.jp/community-med/publiccmd/GE/CCP004.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大橋 順 (OHASHI JUN)
筑波大学・医学医療系・准教授
研究者番号: 80301141

(2) 研究分担者

木村 亮介 (KIMURA RYOSUKE)
琉球大学・医学部・准教授
研究者番号: 00453712
西田 奈央 (NISHIDA NAO)
独立行政法人国立国際医療センター・肝炎・免疫研究センター・上級研究員
研究者番号: 50456109
中山 一大 (NAKAYAMA KAZUHIRO)
自治医科大学・医学部・講師
研究者番号: 90433581