

## 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 6 月 4 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591001

研究課題名（和文）内臓脂肪測定ゲノムバンクを用いた脂質異常症の遺伝マーカー開発へ向けた探索研究

研究課題名（英文）Exploratory research for the development of genetic markers in dyslipidemia using genome bank with data of visceral obesity.

研究代表者

岩本 禎彦 (Iwamoto Sadahiko)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：10232711

研究成果の概要（和文）：健診受診者からインフォームド・コンセントを得たのち、内臓脂肪蓄積レベルを測定し、末梢血を約 3000 例収集した。この血液から抽出した DNA と、従来収集していた日本人 2 万 1 千人と世界各地の DNA を用いて集団遺伝学的解析を行った結果、血中脂質の調節に関わる遺伝因子を複数同定した。また、内臓肥満に関わる新たな遺伝子を同定し、東アジア人の移動、進化に伴う自然淘汰の痕跡を見出した。

研究成果の概要（英文）：A genome resource bank is established through this study project, which includes 3000 Japanese sample combined with clinical, visceral adiposity and life style data. Several genetic markers associated with dyslipidemia and obesity were identified by the genetic association studies. A novel genetic variation associated with visceral adiposity appears to be high prevalent in East Asia through positive natural selection.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2012 年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：脂質代謝異常

1. 研究開始当初の背景  
生活習慣の欧米化に伴って、我が国においても動脈硬化を基盤とした虚血性心疾患、脳卒中による死亡が死因の第 1 位を占めるようになった。そのリスクファクターである脂質異常症は、別のリスクファクターである遺伝要因としても重要な位置を占める。血清脂質レベルの遺伝率は 50～70%とされ、遺伝の影響は大きいと予想されていた。しかし、ゲノムワイド関連解析で明らかに

なった SNP の遺伝子型を全て明らかにしたとしても、血清脂質レベルが示す分散の 5%程度しか説明できない。従って、遺伝率のギャップを埋める遺伝因子、即ち、遺伝子頻度は低い、より血清脂質レベルを大きく変化させる臨床的意義のある多型あるいは変異を見いだすことは、将来的に発展が期待される個別化医療に対応するために不可欠な課題と考えられた。

## 2. 研究の目的

脂質異常症の経験的遺伝率(50~70%)と、ゲノムワイド関連解析で明らかにされたSNP多型によって説明できる遺伝率(5%)とのギャップを埋めるべく、遺伝子頻度は低い、より血清脂質レベルを大きく変化させる臨床的意義のある多型あるいは変異を見いだす。これを、内臓脂肪レベルを測定したゲノムなどを用いて検証することによって、遺伝子変異の見いだされた遺伝子座の脂質レベルへの効果を評価し、遺伝子診断など将来的に発展が期待される個別化医療に対応可能な遺伝マーカーの開発を目指す。

## 3. 研究の方法

(1) LDL コレステロール、HDL コレステロール、トリグリセリド値の上位と下位数%のポピュレーションにおける脂質異常症候補遺伝子群の変異スクリーニング

(2) 大規模な対照集団を用いた変異の特異性の検証

(3) 脂質異常症のゲノムワイド関連解析で関連が認められたが、機能的なSNPが同定されていない染色体領域における大規模な変異検出と責任変異の同定

(4) 家系サンプルを用いた稀な遺伝子多型の脂質レベルへの効果の検証

(5) 肥満、年齢、閉経などの血清脂質レベルに影響する環境因子や交絡因子を正しく評価した遺伝環境相互作用に関する統計的解析

(6) 生活習慣と遺伝的背景の異なる他民族における遺伝環境相互作用の検証と解析

## 4. 研究成果

(1) Fatty acid desaturase 1/2 (FADS1/2)の多型は日本人や欧米人では血中トリグリセリドと強く関連することを見出していたが、モンゴル人ではLDLコレステロールレベルとの関連がより強固に認められ、肉や乳製品を主食とするモンゴルの食習慣との遺伝環境相互作用が考えられた。

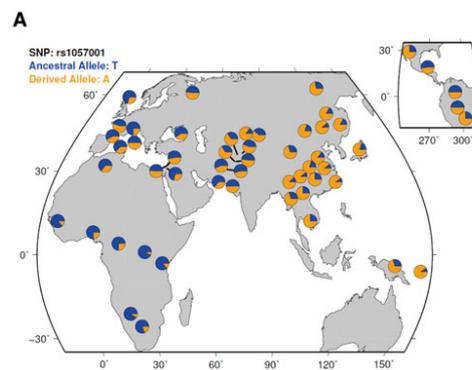
Table 3 rs174547 genotypes and plasma lipid profiles

Japanese					
	rs174547 genotype (no. of individuals)			MLR <sup>a</sup>	
	T/T (7021)	T/C (8081)	C/C (2464)	$\beta$	P value
TG	106.1 (60.3)	109.6 (60.8)	112.0 (62.9)	0.04	1.5E-6
HDL-C	61.8 (16.2)	61.3 (16.1)	60.7 (16.4)	-0.02	0.03
LDL-C	117.2 (31.1)	117.0 (31.1)	115.6 (30.7)	-0.02	0.08
Mongolian					
	rs174547 genotype (no. of individuals)			MLR <sup>a</sup>	
	T/T (295)	T/C(586)	C/C(310)	$\beta$	P value
TG	116.5 (72)	122.6 (80.0)	127.9 (95)	0.01	0.654
HDL-C	54.4 (10.9)	54.1 (11.5)	54.9 (12.0)	0.01	0.856
LDL-C	109.3 (31.7)	102.0 (30.0)	97.9 (28.4)	-0.14	2.6E-6

(2) レチノイド結合蛋白 (RBP4) のプロモーターSNPはモンゴル人において糖尿病と関連することを見出していたが、日本人においてはBMIと関連し、脂肪組織において発現レベルと関連することを明らかにした。

(3) ゲノムワイド関連解析 (GWAS) によって血中トリグリセリドとの関連が見出されていた Carbohydrate responsive element binding protein (ChREBP) のトリグリセリドを低下させるバリエーションは、モンゴル、チベット、ウイグルなど中央アジアに高頻度に見出されることを明らかにし、遊牧に基づく食習慣などの遺伝環境相互作用が考えられた。

(4) 健診受診者から提供して頂いた3000人のゲノム収集時には健診で得られる血液データや生活習慣のデータに加え、X線を用いない完全非侵襲型の測定器を用いて内臓脂肪の蓄積データを取得した。これに関連する遺伝子を検索した結果、TRIB2の遺伝子多型が強く関連することを発見した。TRIB2は、キナーゼ様ドメインを持つシグナルモジュレーターであり、メカニズムはこれからの課題であるが、その後の報告でも心外膜の脂肪蓄積と強く関連することが明らかにされており、何らかのメカニズムで内臓脂肪蓄積を制御していると思われる。また、他民族における解析によって、内臓脂肪蓄積に働くリスクアレルは東アジア集団に高頻度であり、周辺の多型と合わせて考えると、正の自然選択が行われた可能性が示唆された。



(5) 欧米人におけるGWASで同定された脂質関連新規遺伝子TRIB1の機能的解析をアデノウイルスベクター導入マウスを用いて行った結果、肝臓における過剰発現は、マウス血清TG、コレステロール、血糖値の低下をもたらすことが明らかになるとともに、肝臓における脂質とグリコーゲンの蓄積にも関与することが明らかになった。さらに、肝臓トランスクリプトーム解析を

行った結果、脂質合成、解糖系、ならびにグリコーゲン合成に関わる遺伝子群の有意な発現変化を認めた。そして、それに関わる転写因子と MAP キナーゼ系シグナル伝達分子群タンパクの発現変化を明らかにした。また、ChREBP の発現変化は TRIB1 タンパクとの分子間相互作用の結果であることが初めて明らかになった。この成果については、現在投稿中である。

#### 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. 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 Jun;127(6):685-90. doi: 10.1007/s00439-010-0815-6.
- ② 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 May;18(5):1006-14. doi: 10.1038/oby.2009.358.
- ③ 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 Dec;56(12):828-33. doi: 10.1038/jhg.2011.109.
- ④ Nagashima S, Yagyu H, Takahashi N, Kurashina T, Takahashi M, Tsuchita T, Tazoe F, Wang XL, Bayasgalan T, Sato N, Okada K, Nagasaka S, Gotoh T, Kojima M, Hyodo M, Horie H, Hosoya Y, Okada M, Yasuda Y, Fujiwara H, Ohwada M, Iwamoto S, Suzuki M, Nagai H, Ishibashi S. Depot-specific expression of lipolytic genes in human adipose tissues--association among CES1 expression, triglyceride lipase

activity and adiposity. J Atheroscler Thromb. 2011;18(3):190-9.

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jat/18/3/18\\_6478/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jat/18/3/18_6478/_article)

- ⑤ 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 Feb;132(2):201-17. doi: 10.1007/s00439-012-1240-9.
- ⑥ Rosell M, Hondares E, Iwamoto S, Gonzalez FJ, Wabitsch M, Staels B, Olmos Y, Monsalve M, Giralt M, Iglesias R, Villarroya F. Peroxisome proliferator-activated receptors- $\alpha$  and - $\gamma$ , and cAMP-mediated pathways, control retinol-binding protein-4 gene expression in brown adipose tissue. Endocrinology. 2012 Mar;153(3):1162-73. doi: 10.1210/en.2011-1367.

[学会発表] (計 17 件)

- ① Nakayama K, Ogawa A, Yanagisawa Y, Gotoh T, Miyashita H, Munkhtulga L, Kagawa Y, Iwamoto S.: Resequencing of human type B scavenger receptor genes in Asia-Pacific populations. The American Society of Human Genetics 60<sup>th</sup> annual meeting 2010年11月2-6日 Washington, DC
- ② 岩本禎彦, 石塚裕美, 小川歩美, 後藤孝也, 中山一大: 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, 三重, 2010年8月5日~7日(抄録集 pp59)
- ③ 中山一大, 小川歩美, 柳沢佳子, 後藤孝也, 宮下洋, 神田芳郎, ムンフトルガ・ルハグワスレン, 香川靖雄, 岩本禎彦: 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
- ④ Panichareon B, Nakayama K, Sukhumsirichart W, Thurakitwannakarn W, Kagawa Y, Iwamoto S.: 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
- ⑤ 石塚裕美, 中山一大, 小川歩美, 柳沢佳子, 後藤孝也, 宮本洋, 岩本禎彦: 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
- ⑥ Nakayama K, Ogawa A, Ishizuka Y, Yanagisawa Y, Miyashita H, Kagawa Y, Iwamoto S: Common variant of the *TRIB2* influences central obesity. 12th International Congress of Human Genetics/61th Annual Meeting of American Society of Human Genetics. Montreal, Canada, 14 October, 2011. (Abstract: Abstract Book of the 12th International Congress of Human Genetics/61th Annual Meeting of American Society of Human Genetics, p689)
- ⑦ Panichareon B, Nakayama K, Thurakitwannakarn W, Iwamoto S, Sukhumsirichart W: OPCML is a schizophrenia-susceptible gene in Thai population. The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Yokohama, Japan, September 17, 2011. (Abstract: Online Abstract Book of The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, P4-q21)
- ⑧ 石塚裕美, 小川歩美, 中山一大, 岩本禎彦. 血清脂質レベル関連遺伝子 *Trib1* 導入マウスにおけるエネルギー消費. 第32回日本肥満学会、兵庫県淡路市、2011年9月23日(日本肥満学会会誌第17巻抄録集 p205)
- ⑨ 岩本禎彦、石塚裕美、小川歩美、中山一大. 新規血清脂質レベル関連遺伝子 *Trib1* 導入マウス肝臓のトランスクリプトーム解析. 第32回日本肥満学会、兵庫県淡路市、2011年9月23日(日本肥満学会会誌第17巻抄録集 p206)
- ⑩ 岩本禎彦、石塚裕美、小川歩美、中山一大. Mixed genome を用いた血清脂質関連遺伝子のリシーケンス. 日本人類遺伝学回第56回大会、千葉県千葉市、2011年11月12日(日本人類遺伝学会第56回大会抄録集 p182)
- ⑪ 中山一大、小川歩美、石塚裕美、柳沢佳子、宮下洋、香川靖雄、岩本禎彦. Tribbles homolog2 遺伝子は東アジア人の中心性肥満と関連する. 日本人類遺伝学回第56回大会、千葉県千葉市、2011年11月11日(日本人類遺伝学会第56回大会抄録集 p154)
- ⑫ 中山一大、小川歩美、石塚裕美、柳沢佳子、宮下洋、香川靖雄、岩本禎彦. *TRIB2* と中心性肥満：俟約遺伝子仮説の観点から. 第65回日本人類学会大会、沖縄県那覇市、2011年4日(第65回日本人類学会大会抄録集 p44)
- ⑬ 石塚裕美、Supichaya Boonvisut、北

村愉介、巻嶋咲穂、中山一大、岩本禎彦. 血清脂質レベル関連遺伝子 *Trib1* の肝臓発現の摂食関連概日リズムによる調節. 第33回日本肥満学会、京都、2012年10月12日(日本肥満学会会誌第18巻抄録集 p199)

- ⑭ 岩本禎彦、石塚裕美、中山一大、巻嶋咲穂、北村愉介、Supichaya Boonvisut、宮下洋、柳沢佳子、片島充弘、恩田智彦、福島省吾、岡田浩一. 内臓脂肪測定ゲノムバンクの構築と候補遺伝子との関連 SNP 解析. 第33回日本肥満学会、京都、2012年10月11日(日本肥満学会会誌第18巻抄録集 p172)
- ⑮ 中山一大、柳沢佳子、恩田智彦、片島充弘、岡田浩一、福島省吾、宮下洋、岩本禎彦. 腹部インピーダンス法で測定した内臓脂肪面積のゲノム解析への応用. 日本人類遺伝学会第57回大会、東京、2012年10月25日(日本人類遺伝学会第56回大会抄録集 p171)
- ⑯ 岩本禎彦、石塚裕美、北村愉介、巻嶋咲穂、Supichaya Boonvisut、中山一大、宮下洋. 血清脂質関連 *Trib1* 多型は脂肪肝とも関連する. 日本人類遺伝学会第57回大会、東京、2012年10月27日(日本人類遺伝学会第56回大会抄録集 p151)
- ⑰ Iwamoto S, Ishizuka Y, Kitamura Y, Makishima S, Boonvisut S, Nakayama K. *TRIB1* is involved in the susceptibility of non-alcoholic fatty liver disease. 62nd Annual Meeting of American Society of Human Genetics, San Francisco, 9 November, 2012. (Abstract: Abstract Book of the 62nd Annual Meeting of American Society of Human Genetics, p192)

〔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：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：

種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岩本 禎彦 (IWAMOTO SADAHIKO)  
自治医科大学・医学部・教授  
研究者番号：10232711

### (2) 研究分担者

後藤 孝也 (GOTOH TAKAYA)  
自治医科大学・医学部・講師  
研究者番号：80284355  
中山 一大 (NAKAYAMA KAZUHIRO)  
自治医科大学・医学部・助教  
研究者番号：90433581  
宮下 洋 (MIYASHITA HIROSHI)  
研究者番号：90301449

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：