

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23687036

研究課題名(和文)生活習慣病遺伝子を指標としたアジア地域での農耕・遊牧への遺伝的適応の実証研究

研究課題名(英文)Genetic adaptation to agriculture in Asians: Insights from lifestyle-related diseases

研究代表者

中山 一大(Nakayama, Kazuhiro)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：90433581

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 9,400,000円、(間接経費) 2,820,000円

研究成果の概要(和文)：遊牧民族であるモンゴル人と、農耕を中心的な生業としてきた日本人では、肥満などの生活習慣病への感受性に大きな差を示す。このような差は、両集団が異なる生業に遺伝的に適応してきたことに部分的に由来すると考え、ゲノム人類学・遺伝疫学的解析を展開した。その結果、モンゴル人と日本人などの農耕民族の間で、アルコール代謝、脂肪酸代謝、糖新生・解糖などに関与する遺伝子群や、脂肪蓄積に関連する遺伝子セットが大きな遺伝的分化を示すこと、内臓脂肪蓄積に関連する遺伝子多型が東アジア人で正の自然選択を受けていたことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Mongolians, a nomadic group in East Asia, are different from agricultural East Asians in susceptibility to lifestyle-related diseases. Genetic adaptation to the distinctive occupations would partly contribute to the ethnic differences in the disease susceptibility. The present anthropological, genetic-epidemiological study revealed that Mongolians and agricultural East Asians (Japanese and Han Chinese) showed large genetic differentiations in gene sets related to metabolic disorders, including alcohol metabolism, fatty acid metabolism, gluconeogenesis/glycolysis, and adipogenesis. Additionally, novel gene influencing visceral fat accumulation in East Asians (TRIB2) was identified.

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：ゲノム多様性 生活習慣病 SNP モンゴル人 適応

## 1. 研究開始当初の背景

遺伝的に近いとされているアジア人の間でも、生活習慣病の感受性に民族差があることが報告されている。日本人では、ボディマス指標が  $30\text{kg}/\text{m}^2$  を超えるような肥満者は稀で、軽度の肥満でも代謝異常のリスクが上昇する。ところが、モンゴル人では肥満者の割合が日本人よりも非常に高く、さらに各種代謝異常も、肥満がより進行した状態で発症する。卑近的に言えば、モンゴル人は日本人よりも“肥満がもたらす代謝異常に強い”のである。

2つのアジア人集団の伝統的な生業形態は対照的である。日本人の祖先集団は、狩猟採集から水稲中心の農耕へと転換したが、モンゴル人の祖先集団は、寒冷・乾燥な地域での遊牧を選択した。動物性の脂質は、等しいカロリー量の炭水化物よりも肥満を引き起こしやすく、各種代謝異常を惹起しやすい。畜産物に強く依存してきたモンゴル人の祖先集団は、高脂質負荷がもたらす代謝ストレスに慢性的に晒されてきたはずである。一方、動物性食品の摂取量が減少した日本人の祖先集団は、複数種の必須アミノ酸・脂肪酸が欠乏する事態にしばしば遭遇したであろう。このような、狩猟採集から農耕あるいは遊牧への転換に伴う栄養資源の変容に対して、祖先集団の代謝システムや摂食調節システムに適応的变化が起きたのかどうかは不明であるが、そのような遺伝的適応の存在を実証出来れば、それは、農耕あるいは遊牧への適応の結果獲得された体質の差が、今日の日本人とモンゴル人の生活習慣病感受性の差をもたらしていることを支持する証拠と成りうる。

## 2. 研究の目的

本研究では、農耕と遊牧という異質な生業形態への遺伝的適応が、生活習慣病感受性の民族差に寄与しているという仮説を打ち立て、これを検証するべく、進化遺伝学的アプローチを用いてアジア人の生活習慣病感受性遺伝子の同定およびその進化パターンの理解を図った。

## 3. 研究の方法

**(1)ゲノムワイド SNP 解析** モンゴル人 48 名について、HumanOmni2.5Bead Chip を用いて、約 240 万の一塩基多型 (SNP) の遺伝子型判定を行った。上記 48 名のうち、ゲノムワイド SNP 情報の予備的解析によって、他の集団との混血が疑われた 1 名と、集団内に近縁者がいることが疑われた 2 名は以後の解析から除外した。

**(2)遺伝子セットエンリッチメント解析** 既に公表されている日本人 45 名・中国漢人 43 名 (ともに国際 HapMap 計画で解析されたサンプル) の全ゲノム SNP 情報と比較し、固定指数という集団遺伝学的統計量を指標として、各 SNP について遺伝子型頻度の差を評価した。各 SNP の位置情報を参考に、遺伝子ごとに集団間分化度を評価、遺伝子セットエンリッチメント解析によって、集団間で大きな分化度を示す遺伝子群に、共通した機能を持つものがあるかどうかを検討した。

**(3)SNP-表現型関連解析** 遺伝的分化度が大きかった SNP や、その他の候補 SNP について、ボディマス指標や腹囲周径、内臓脂肪面積などの肥満度パラメータ、中性脂肪濃度、コレステロール濃度などの血液生化学検査値な

どの各種代謝パラメータとの関連を、日本人・モンゴル人、タイ人、パラオ人を含む約 6300 名のコホートで統計的に検証した。

**(4) SNP 機能解析** SNP の機能的意義の推定にはバイオインフォマティクスの手法とともに、日本人 48 名の皮下および内蔵脂肪組織から収集したメッセンジャーRNA 試料を用いた遺伝子転写量解析も行った。

**(5) 進化遺伝学的解析** integrated haplotype similarity score 解析などの、SNP ハプロタイプ構造の評価から正の自然選択を検出する解析を行った。

#### 4. 研究成果

##### **(1) ゲノムワイド SNP 比較から明らかになったモンゴル人と日本人・漢人の遺伝的特性的差異**

モンゴル人と HapMap 計画の東アジア人 2 集団との間で特に大きな遺伝的分化度を示した SNP (シミュレーションによる  $P$  値  $< 1 \times 10^{-7}$ ) は、グラム陰性菌の溶菌を担う Bacterial permeability inducible protein や、免疫・炎症制御に中心的役割を果たす Interleulin-6、アルコール代謝に関わる Alcohol dehydrogenase 1A などの遺伝子の近傍にマップされた。これら高度に分化した SNP と、集団間でほとんど分化していない SNP とで、どちらが既知の疾患感受性 SNP を多く含むかを検討したところ、高度に分化した SNP 群がより多くの疾患感受性 SNP (NHGRI GWAS catalogue を参照) を含むことが明らかになった ( $P = 3.2 \times 10^{-5}$ )。その内訳を見ると、脂質異常症、肥満、2 型糖尿病などを含む心血管・代謝関連疾患関連 SNP が特に多く含まれていた。

遺伝子エンリッチメント解析の結果、モンゴル人と HapMap の東アジア人集団では、特徴的な遺伝子セットが大きな分化度を示すことが明らかになった。特に、Alcohol dehydrogenase 遺伝子ファミリーや aldehyde dehydrogenase 遺伝子ファミリーなど、アルコール代謝酵素の遺伝子群が大きな分化度を示しており、これは、日本人で特に高頻度で観察されるアルコール摂取に伴うフラッシング反応が、モンゴル人では非常に低い頻度でしか出現しないことと符合している。モンゴルでは、馬の乳から醸す微アルコール飲料である馬乳酒を、大人子供問わず多量に摂取し、夏季の重要な栄養源としている。アルコール代謝遺伝子群の大きな集団間分化は、このような遊牧特有の食行動への適応の基盤であると考えられる。また、アルコール代謝遺伝子群に付随して、群脂肪酸 酸化、生物学的酸化系、解糖系および糖新生に關与する遺伝子セットも大きな遺伝的分化を示しており、これらも 3 集団間の異質な食行動への遺伝的適応の結果形成されたものであると考えられる。

また、脂肪細胞への中性脂肪の蓄積に關与する遺伝子セットも、3 集団間で非常に大きな遺伝的分化度を示していた。その中でも特に大きな分化度を示した SNP を幾つか選抜し、日本人 3013 名の DNA 試料を用いて肥満度や代謝測定値との関連を検証した。その結果、Bone morphogenetic protein2 (BMP2) 遺伝子の上流に存在する SNP が、日本人男性における内臓脂肪面積と強く関連していた ( $P = 0.00096$ )。モンゴル人で高頻度に観察される A アレルの保持者が、より内臓脂肪蓄積が多い傾向にあった。また、同 SNP は、十二指腸

粘膜や胃粘膜でエンハンサー活性を示す領域に位置し、POU クラス転写因子の結合モチーフを修飾する機能的多型であった。BMP2 遺伝子の SNP は、モンゴル人と他の東アジア人集団の肥満感受性の差異に寄与していることが予想される。現在は、大きな遺伝的分化度を示している SNP および遺伝子について、肥満度・代謝測定値との関連解析を進めている。

### (2)内臓脂肪蓄積遺伝子 *TRIB2* の同定：東アジアでの寒冷適応への関与

先の BMP2 の例で紹介した内臓脂肪の蓄積は、脂質異常症、高血圧、インスリン抵抗性などの引き金となり、心血管病の発症リスクを上昇させることが知られている。他方で、食糧供給が著しく不安定だった時代においては、内臓脂肪は余剰エネルギーの蓄積器官としての意義を有していたと考えられている。内臓脂肪の表現型分散の凡そ 40%は遺伝的に説明されうるが、その原因となっている遺伝子座位の多くは未だ謎に包まれている。5,810 人の東アジア人由来の DNA 試料を用い、脂肪細胞の分化に関わる Tribbles pseudokinase 2 遺伝子 (*TRIB2*) の 3' 非翻訳領域に存在する SNP rs1057001 が、内臓脂肪面積および腹囲径と強く関連することを見出した ( $P = 2.7 \times 10^{-6}$  および  $7.0 \times 10^{-6}$ )。さらに同多型は *TRIB2* の転写量に影響を及ぼす機能的多型であることも明らかにした。少ない内臓脂肪量と結びついている rs1057001 の A アレルは人類集団間で大きな頻度差を示しており、アフリカで低く、東アジアで高い明瞭な傾向が認められた。ゲノムワイドな SNP ハプロタイプを精細に解析した

ところ、東アジア人の祖先集団において A アレルと強く連鎖するハプロタイプに正の自然選択が作用したために、その頻度が急激に上昇したことを支持する結果が得られた。また、自然選択が作用した年代は凡そ 1 万年 ~ 3 万年前の最終氷期最盛期にあたるという試算が得られた。*TRIB2* の脂肪組織における機能を明らかにするため、日本人 48 名から収集した皮下および内臓脂肪組織由来のメッセンジャー RNA 試料を用いて、脂肪組織に機能に関連する遺伝子の発現量を調査したところ、A アレルの保持者では、皮下脂肪組織において *ADRB3* や *DIO2*, *PPARGC1A* などの熱産生に関与している遺伝子の転写量が高い傾向が認められた。痩せ型の A アレルが正の自然選択を受けたのが最終氷期最大期付近であったことを勘案すると、A アレルは摂取カロリーを熱変換する能力の高さから寒冷環境に適応的であり、現代においては、熱産生効率の高さが内臓脂肪蓄積の減少として顕在化しているものと考えることができよう。

### (3)熱産生遺伝子 *UCP1* の SNP が肥満に及ぼす効果は季節依存性である。

近年、寒冷刺激によって熱産生を亢進する褐色脂肪組織 (BAT) が成人にも存在することが明らかになり、肥満の予防・治療の新たな標的として注目を集めている。1 型非共役タンパク質遺伝子 (*UCP1*) と BAT の熱産生に中心的な役割を果たしており、1990 年代に報告された最初の“肥満遺伝子”である。多くの研究者が *UCP1* と肥満との関連解析研究を行ってきたが、関連を支持しない結果も多く報告されていた。本研究では、日本人検診

受診者 3013 名の DNA の試料を用いて、*UCP1* の SNP の -3826A/G が内臓脂肪面積に与える影響について、季節性を考慮した関連解析を行った。全被験者をまとめて解析すると、*UCP1* は肥満形質との関連を示さなかったが、寒冷期（1～4月）に測定を行った被験者では内臓脂肪面積との関連を示し（ $P = 0.020$ ）、その傾向は男性で顕著であった（ $P = 0.005$ ）。一方、暑熱期（7～10月）に測定を行った被験者では、*UCP1* は内臓脂肪面積との関連を示さなかった。測定月の平均気温と *UCP1* が内臓脂肪面積に及ぼす効果の大きさの間には強い負の相関が認められた（ $P = 0.00011$ ）。*UCP1* -3826A/G は成人における BAT 陽性率と関連することが報告されている。今回の結果は、BAT による熱産生効率の個人差が成人肥満の原因として重要であり、SNP-肥満関連解析の実施には、被験者が計測を受けた季節などについても考慮する必要があることを示唆するものである。

## 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 11 件）

1. Nakayama K et al. Assessment of the adaptive significance of MLXIPL Gln241His variant by using health check-up cohorts. Japanese Journal of physiological anthropology 19:63-67 2014 査読あり
2. Ishizuka Y, Nakayama K et al. TRIB1 downregulates hepatic lipogenesis and glycogenesis via multiple molecular interactions. Journal of molecular endocrinology 52:145-158 2014 査読あり
3. 西島千陽, 仲本桂子, 中山一大ら 日本人菜食主義者における脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の単一塩基多型の血中脂質プロファイルに及ぼす影響 女子栄養大学栄養科学研究所年報 19:94-95 2013 年 査読なし
4. Naka I, Hikami K, Nakayama K et al. A functional SNP upstream of the beta-2 adrenergic receptor gene (ADRB2) is associated with obesity in Oceanic populations. International journal of obesity 37:1204-1210 2013 査読あり
5. Nakayama K et al. Positive natural selection of TRIB2, a novel gene that influences visceral fat accumulation, in East Asia. Human genetics 132: 201-217 2013 査読あり
6. Nakayama K et al. Seasonal effects of *UCP1* gene polymorphism on visceral fat accumulation in Japanese adults. PLoS one 8 e74720 2013 査読あり
7. 中山一大ら 内臓脂肪ゲノムバンクの構築と新規内臓脂肪関連遺伝子の同定 DNA 多型 21: 245-249 2013 年 査読なし
8. Panichareon B\*, Nakayama K\* et al. Association of CTXN3-SLC12A2 polymorphisms and schizophrenia in a Thai population. Behavioral and brain functions 8:27 2012 \*共筆頭者、査読あり
9. Panichareon B\*, Nakayama K\* et al. OPCML gene as a schizophrenia susceptibility locus in Thai population. Journal of molecular neuroscience 46:373-377 2012 \*共筆頭者、査読あり
10. Nakayama K et al. High prevalence of an anti-hypertriglyceridemic variant of the MLXIPL gene in Central Asia. Journal of human genetics 56: 828-833 2011 査読あり

11. 石塚裕美, 中山一大ら 高脂血症感受性遺伝子 TRIB1 は高血圧とも関連する DNA 多型 19:271-274 2011 年 査読なし

〔学会発表〕(計 22 件)

1. 中山一大 腹部生体インピーダンス法による内臓脂肪測定とその応用研究 国際カイロミクロンシンポジウム.2014年3月 埼玉県坂戸市
2. 中山一大ら UCP1 3826G/A が内臓脂肪蓄積に及ぼす影響の季節性, 第 58 回日本人類遺伝学会大会 2013 年 11 月 宮城県仙台市
3. 中山一大ら モンゴル人の代謝特性の解明を目指したゲノムワイド SNP 研究 第 67 回日本人類学会大会 2013 年 11 月, 茨城県つくば市
4. 中山一大ら 熱産生関連遺伝子多型が内臓脂肪蓄積に及ぼす影響の季節性 第 68 回日本生理人類学会大会 2013 年 6 月、金沢県金沢市
5. 中山一大ら 腹部生体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の応用. 第 57 回日本人類遺伝学会大会 2012 年 10 月、東京都新宿区
6. 中山一大ら 東アジアで正の自然選択をうけた Tribbles Homolog2 遺伝子多型は腹囲径よりも内臓脂肪面積と強く関連する. 第 66 回日本人類学会大会 2012 年 11 月 神奈川県横浜市
7. 中山一大ら 内臓脂肪ゲノムバンクの構築と新規内臓脂肪面積関連遺伝子の同定. 日本 DNA 多型学会第 21 回学術集会 2012 年 11 月 京都府京都市
8. 中山一大ら TRIB2 と中心性肥満: 俚約遺伝子仮説の観点から. 第 65 回日本人類学会大会 2011 年 11 月 沖縄県那覇市
9. 中山一大ら Tribbles homolog2 遺伝子は東アジア人の中心性肥満と関連する 第

56 回日本人類遺伝学会大会 2011 年 11 月 千葉県千葉市

〔図書〕(計 3 件)

1. 中山一大 ゲノム人類学の最先端 vol.8 内臓脂肪関連遺伝子多型の進化医学のあゆみ 249:642-644 2014 年
2. 中山一大 遺伝・ゲノム学 内臓脂肪蓄積に関連する新規遺伝子 TRIB2 の同定とその進化パターンの解析 医学のあゆみ 246: 977-978 2013 年
3. 中山一大【ゲノム人類学入門】「出アフリカ」以後の人類拡散と疾患リスク遺伝子 もう一つの進化医学【Part3:進化の視点から考える疾患変異】内臓脂肪蓄積に関連する遺伝子とその進化 生物の科学 遺伝 67:339-345 2013 年

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

中山一大 (NAKAYAMA KAZUHIRO)

研究者番号: 90433581