

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2014～2016

課題番号：26291096

研究課題名（和文）東アジアにおける『寒冷適応＝肥満抗性仮説』の実証に向けたゲノム人類学研究

研究課題名（英文）Genome anthropology study for testing the Cold adaptation and Anti-Obesity hypothesis in East Asia

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） 12,500,000円

研究成果の概要（和文）：現代人の肥満はエネルギーの摂取量と消費量の不均衡にその原因がある。本課題では、エネルギー消費の一翼を担う「代謝性熱産生」に着目し、現代人の肥満感受性が、祖先集団が過去に獲得した寒冷環境への遺伝的適応形質の影響下にある、という仮説を実証すべく、全ゲノムレベルでのヒトの遺伝的様性パターンの解析、遺伝疫学解析、分子生物学解析を柱とする学際的研究を推進した。

研究成果の概要（英文）：Obesity in modern humans is caused by the imbalance between energy intake and expenditure. Metabolic thermogenesis is enhanced by various stimuli including cold exposure and partly explains the energy expenditure in the human body. We hypothesized that the susceptibility to obesity in the present human populations consists of genotypes that had contributed to adaptation to cold environments during modern human evolution. To demonstrate this hypothesis, we promoted a multidisciplinary study integrating evolutionary genetics at genome wide level, genetic epidemiology, and molecular cellular biology.

研究分野：人類学

キーワード：モンゴル人 ゲノム多様性 寒冷適応 正の自然選択 肥満

## 1. 研究開始当初の背景

肥満は、多くの人々にとっての関心事であり、“何故ヒトは太るのか？”という問いに対して、様々な分野の研究者が解答を探し続けてきた。肥満の進化を人類学的に説明した有名な仮説が、『俟約遺伝子仮説』である。同仮説では、太古の狩猟・採集社会では、摂取カロリーを俟約的に貯蔵できる遺伝子型（多型や変異）をもつヒトが、飢餓を生き抜き、より多くの子孫を残すことができたが、飽食の現代生活では、適応的だったその遺伝子型が、かえって肥満を助長している、と説明している。

我々は、同仮説に基づき、東アジア・オセアニアのヒト集団での、肥満とそれに起因する代謝異常の感受性を説明する遺伝子多型を探索し続けてきた。その過程で、摂取カロリーを貯めこまない“浪費的”な遺伝子型が適応上有利であったような遺伝子の例と複数遭遇した。ここに、東アジア人の肥満・代謝異常感受性に、『寒冷環境』と『熱産生』をキーワードとする生理機能が深く関与している可能性が浮かび上がったのである。

ヒトをはじめとした哺乳類は、寒冷暴露に際して、蓄えた脂質をエネルギー源として熱産生を行い、体温を保つ。寒冷暴露に対する熱産性能の個人差は、肥満と代謝異常の感受性の個人差と密接に結びついている。比較的温暖な地域で進化してきたヒトが、最終氷期の東アジアのような寒冷地域に進出できた背景には、防寒具の発明に加え、耐寒能に寄与する遺伝子の進化があったと考えられる。東アジア人の祖先集団が、最終氷期の寒冷気候への適応の結果獲得した、耐寒能に優れた遺伝子型の一部が現代のヒト集団にも継承されており、それが肥満・代謝異常への抵抗性の一部をなしていると考えられることができる。ところが、皮膚色や免疫システムといった他の適応形質とは異なり、耐寒能力に影響する遺伝的多型は、申請者らの報告例を含めても殆ど解明されていなかった。

## 2. 研究の目的

“今日の東アジア人の肥満・代謝異常の感受性の形成に、最終氷期におきた寒冷気候への遺伝的適応が寄与している”、という『寒冷適応 = 肥満抵抗性仮説』を検証するため、これを支持する実例（遺伝子）を発見することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) ゲノムワイド SNP 情報の取得

寒冷地に適応してきた東アジア人集団として、モンゴル人を研究対象とした。ウランバートル市収集したモンゴル人 96 名の DNA 試料について、HumanOmni2.5 BeadChip kit を用いてゲノムワイド SNP 遺伝型判定を実施した。得られたおよそ 200 万箇所の SNP データは、1000 人ゲノムプロジェクトで公開され

ているアフリカ人・ヨーロッパ人・アジア人の全ゲノム塩基配列データと統合し、その後の解析に使用した。集団構造等の検証のために HGDP-CEPH 集団のゲノムワイド SNP データ（約 65 万 SNP）も併せて解析した。

### (2) 自然選択の検出

Integrated haplotype similarity score (iHS) test・new haplotype statistics (nSL) などのハプロタイプホモ接合度を測る指標と、集団間での遺伝型頻度の差を測るとした Fixation index (Fst) 等の複数の手法を用いて、モンゴル人が他の東アジア人集団と分岐した後に作用したと思しき正の自然選択の痕跡を探索した。個別の領域の自然選択開始時期の推定には、2 座位 2 対立遺伝子モデルと Approximate Bayesian Computation (ABC) 法を用いた。

### (3) 遺伝型 表現型関連解析

モンゴル人 666 名、日本人 3013 名の DNA 試料を用いて、個別の SNP の遺伝型と各種表現型との関連解析を行った。遺伝型判定には TaqMan 法を使用し、関連解析には共分散分析法、直線重回帰分析法などを利用した。

### (4) SNP 機能解析

個別の SNP について、エンハンサー・ジーンアッセイによる機能解析を実施した。標的 SNP を中心とした 1000 塩基対をルシフェラーゼ発現ベクターのプロモーター上流に導入、HEK293, 3T3L1, HepG2 細胞に感染させた、SNP アレルごとのエンハンサー活性を測定した。

## 4. 研究成果

モンゴル人と 1000 人ゲノム計画の東アジア人集団（日本人・中国漢人・中国タイ族・シンガポール漢人・ベトナムキン族）のゲノムワイド SNP 遺伝型情報を比較した結果、モンゴル人特異的に正の自然選択が作用した SNP を計 103 個同定した。これらの SNP は 18 のゲノム領域に散在していた。中でも、染色体領域 3p12.1 が 23 個の有意な SNP を内包しており、モンゴル人特異的な自然選択の痕跡を最も顕著に提示していた。同領域中の Top SNP である rs11779927 (A/G) は、マイナーアレル (G) の頻度が 1000 人ゲノムのヒト集団では 0.5% 程度であるのに、モンゴル人では 24% と非常に高かった ( $F_{st} = 0.377$ ,  $P = 0.000$ )。iHS・nSL テストの結果からも、G アレルがモンゴル人で特異的に正の自然選択を受けたことが明らかになった。

rs11779927 - G と表現型との関連を、モンゴル人 666 名を対象に調査したところ、G アレルのホモ接合キャリアは、腹囲径・臀囲径・ボディマス指標・血清レブチン濃度などが有意に低値であり、肥満抵抗性を有している可能性が明らかになった。げっ歯類・ヒトに由来する複数の細胞株を用いたレポーター・ジーンアッセイの結果、rs11779927 を中

心とした 1000 塩基対のゲノム配列にエンハンサー活性が認められ、なおかつ G アレルが A アレルよりも活性が高いことが明らかになった。また、rs117799927G 周辺にはビタミン D 受容体、レチノイド X 受容体 などの核内受容体が結合するモチーフが存在しており、A アレルではこのモチーフが解消されていることも明らかになった。

rs117799927 - G に自然選択が作用した年代を推定するため、周辺のマーカー SNP との連鎖不平衡情報を活用したコンピューターシミュレーションを実施したところ、rs117799927G アレルに作用した正の自然選択の年代はおよそ 1500 年前 (選択係数  $s_0 = 0.5$ ) であった。この時期のモンゴル人の祖先は、中国東北部に 7 世紀頃に存在していた室韋という遊牧民族に遡ることできる。また、同じく室韋に起源を有すると考えられている中国黒竜江省や内モンゴル自治区の少数民族集団でも rs117799927G は頻度が高く、3p12.1 領域に作用した正の自然選択が室韋とその近縁の歴史集団で始まったことを示唆する結果となった。

自然選択が作用した 1500 年前は、後期古代小氷期として知られており、火山の噴火に端を発する異常な寒冷化が 100 年以上に渡った時代にあたる。3p12.1 に存在する遺伝子の一つである VGLL3 遺伝子は、脂肪細胞の分化・機能に關与する転写因子をコードしており、褐色脂肪細胞と白色脂肪細胞で異なる遺伝子発現パターンを示すことから、褐色脂肪細胞が司る代謝性熱産生機能に寄与している可能性が高い。さらに、正の自然選択が作用したアレルが抗肥満効果を持つことから、我々が想定する『寒冷適応 = 肥満抵抗性仮説』を指示する遺伝的多型の実例であると考えられる。

3p12.1 領域以外のゲノム領域にも、代謝性熱産生に關与している遺伝子を内包するゲノム領域に、モンゴル人特異的な正の自然選択の痕跡が同定された。代表例が第 3 染色体長腕の領域褐色脂肪細胞の分化に關わる転写遺伝子である ZIC1 である。この周辺の SNP と肥満形質との關連については今後の検討課題である。

#### 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 16 件)

1. Nakayama K, Ohashi J, Watanabe K, Munkhtulga L, Iwamoto S. Evidence for very recent positive selection in Mongolians. *Mol Biol Evol.* 2017 published Online
2. Naka I, Furusawa T, Kimura R, Natsuhara K, Yamauchi T, Nakazawa M, Ataka Y, Ishida T, Inaoka T, Matsumura Y, Ohtsuka R, Ohashi J. A missense variant, rs373863828-A (p.Arg457Gln), of CREBRF and body mass index in Oceanic populations. *J Hum Genet.* 2017 published online
3. Nakayama K, Saito S, Watanabe K, Miyashita H, Nishijima F, Kamo Y, Tada K, Ishizuka S, Niwa T, Iwamoto S, Shimizu H. Influence of AHR Pro189Ala polymorphism on kidney functions. *Biosci Biotech Biochem.* 2017 81:1120-1124.
4. Nakayama K, Iwamoto S. An adaptive variant of TRIB2, rs1057001, is associated with higher expression levels of thermogenic genes in human subcutaneous and visceral adipose tissues *J Physiol Anthropol.* 2017 36:16.
5. Watanabe K, Nakayama K, Ohta S, Tago K, Boonvisut S, Millings EJ, Fischer SG, LeDuc CA, Leibel RL, Iwamoto S. ZNF70, a novel ILDR2-interacting protein, contributes to the regulation of HES1 gene expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016 477:712-6.
6. Horiguchi S, Nakayama K, Iwamoto S, Ishijima A, Minezaki T, Baba M, Kontai Y, Horikawa C, Kawashima H, Shibata H, Kagawa Y, Kawabata T\*. Associations between a fatty acid desaturase gene polymorphism and blood arachidonic acid compositions in Japanese elderly. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2016 105:9-14.
7. Boonvisut S, Nakayama K, Makishima S, Watanabe K, Miyashita H, Lkhagvasuren M, Kagawa Y, Iwamoto S\*. Replication analysis of genetic association of the NCAN-CILP2 region with plasma lipid levels and non-alcoholic fatty liver disease in Asian and Pacific ethnic groups. *Lipids Health Dis.* 2016 15:8.
8. Yang Z, Matsumoto A, Nakayama K, Jimbo EF, Kojima K, Nagata K, Iwamoto S, Yamagata T\*. Circadian-relevant genes are highly polymorphic in autism spectrum disorder patients. *Brain Dev.* 2016 38:91-9.
9. Kagawa Y, Nishijima C, Nakayama K, Iwamoto S, Tanaka A, Kawabata T. Nutrigenetics of Japanese Vegetarians with Polymorphism in the Fatty Acid Desaturase. *J Nutr Food Sci.* 2016 6:498.
10. Motoi M, Nishimura T, Egashira Y, Kishida F, Watanuki S. Relationship between mitochondrial haplogroup and physiological responses to hypobaric hypoxia. *J Physiol Anthropol.* 2016 35:12.

11. Nishimura T, Motoi M, Egashira Y, Choi D, Aoyagi K, Watanuki S. Seasonal variation of non-shivering thermogenesis (NST) during mild cold exposure. *J Physiol Anthropol*. 2015 34:11.
12. Makishima S, Boonvisut S, Ishizuka Y, Watanabe K, Nakayama K, Iwamoto S\*. Sin3A-associated protein, 18 kDa, a novel binding partner of TRIB1, regulates MTP expression. *J Lipid Res*. 2015 56:1145-52.
13. Iwamoto S, Boonvisut S, Makishima S, Ishizuka Y, Watanabe K, Nakayama K. The role of TRIB1 in lipid metabolism; from genetics to pathways. *Biochem Soc Trans*. 43:1063-1068. 2015
14. Nakayama K, Miyashita H, Iwamoto S. Seasonal effects of the UCP3 and the RPTOR gene polymorphisms on obesity traits in Japanese adults. *J Physiol Anthropol*. 2014 33:38.
15. Nakayama K, Watanabe K, Boonvisut S, Makishima S, Miyashita H, Iwamoto S. Common variants of GIP are associated with visceral fat accumulation in Japanese adults. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014 307: G1108-14.
16. 中山一大、宮下洋、岩本禎彦 健診集団情報を用いたMLXIPL Gln241His多型の適応的意義の検討 *日本生理人類学会誌* 2014 19:63-67.

〔学会発表〕(計2件)

代表者の国際学会(招待講演)のみ記載

1. Nakayama K. Identification of Genetic variants for Visceral Fat Accumulation in Japanese. The 12th International Congress of Physiological Anthropology (Invited). Chiba, Japan, 29 October 2015
2. Nakayama K. Genetics of fat distribution and metabolism: Perspectives from human evolution. International Symposium on Human Adaptation to Environment and Whole-body Coordination (Invited). Kobe, Japan, 15 March 2015

〔図書〕(計2件)

1. 中山一大、市石博(編) 日本人類学会人類学教育普及委員会(監) つい誰かに教えたい人類学 63 の大疑問 講談社 2015年11月
2. 自然史科学連合(監) 理科好きな子に育つ ふしぎのお話 365: 見てみよう、やってみよう、さわってみよう 体験型読み聞かせブック 誠文堂新光社 2015年2月

〔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

中山 一大 (NAKAYAMA KAZUHIRO)  
 自治医科大学・医学部・講師  
 研究者番号: 90433581

(2) 研究分担者

渡邊 和寿 (WATANABE KAZUHISA)  
 自治医科大学・医学部・助教  
 研究者番号: 60724416

大橋 順 (OHASHI JUN)

東京大学・理学(系)研究科(研究院)・  
 准教授  
 研究者番号: 80301141

西村 貴孝 (NISHIMURA TAKAYUKI)

長崎大学・医歯(薬)学総合研究科・助教  
 研究者番号: 80713148

(3) 連携研究者

( )

研究者番号:

(4) 研究協力者

( )