

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350891

研究課題名(和文) 若年成人の脂肪性肝疾患における多様性に寄与する遺伝的素因の解析

研究課題名(英文) Analysis of genetic basis for diversity in non-alcoholic fatty liver diseases in young adults

研究代表者

古賀 光 (KOGA, Hikari)

岡山大学・保健管理センター・客員研究員

研究者番号：90596131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：若年成人である大学新入生における脂肪性肝疾患の多様性に遺伝的素因がどの様に関与しているかを、単塩基多型の解析により検討した。その結果、脂肪性肝疾患の関連が報告されている遺伝子多型の内、TM6SF2遺伝子多型は脂肪性肝疾患と有意な関連を示したが、PNPLA3遺伝子多型は有意な関連を示さなかった。さらにTM6SF2遺伝子多型は、その後の脂肪肝の経過ならびに血中LDLコレステロール値にも関連していた。一方、PNPLA3遺伝子多型については、脂肪肝炎(NASH)の病態との関連が血中の白血球分画の解析から示唆された。

研究成果の概要(英文)：The genetic basis for diversity in non-alcoholic fatty liver diseases (NAFLD) in young adults was investigated by analyzing the single nucleotide polymorphisms (SNPs). Of the SNPs of the genes that have reported to be associated with the development of NAFLD, TM6SF2 SNP but not PNPLA3 SNP was significantly associated with NAFLD. Furthermore, the TM6SF2 SNP was associated with prognosis of NAFLD and low-density lipoprotein cholesterol levels in plasma. On the other hand, the PNPLA3 SNP was associated with leukocyte fraction, suggesting its association with pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis (NASH).

研究分野：複合領域

キーワード：脂肪性肝疾患 若年成人 遺伝的素因 遺伝子多型 血中脂質 白血球分画

1. 研究開始当初の背景

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) は基本的に生活習慣が大きく影響しているが、一方でその発症と経過には個人差もある。ことに生活習慣の改善にも抵抗性で肝機能異常が持続する例や、同じ脂肪性肝疾患の中でも、大多数の単純性脂肪肝に対して非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) を発症する例など、個人差が存在することも事実である。

2. 研究の目的

本研究では、年齢及び生活習慣パターンが比較的均一な大学生を対象に、生活習慣の調査とともに疾患感受性遺伝子多型を総合的に解析することにより、若年成人における脂肪性肝疾患の発症と経過における多様性に関連する遺伝的素因を明らかにすることを目的とする。

若年成人の脂肪性肝疾患とその背景としての肥満は、その後の糖尿病・心血管疾患の発症リスクとも関連し極めて重要な健康問題と言える。生活習慣に加えて遺伝的要因を解明することにより、リスク集団の同定による効果的かつ有効な予防および早期の介入が期待できる。

3. 研究の方法

若年成人における脂肪性肝疾患の発症と経過における多様性に関連する遺伝的素因を、背景である生活習慣とともに遺伝子多型を解析することにより明らかにすべく、以下の方法で研究した。

1. ヒトゲノム遺伝子解析研究を含む倫理委員会に承認された手続きに従い、被験者をリクルートした。すなわち、入学時健康診断において血液検査異常を示した学生に対して、事後措置の一環として再検査のための採血を行う際に同意を得て血液試料を採取するとともに腹部超音波検査により脂肪肝の有無、程度を明らかにした。

2. 同時に、身体測定、既往歴、家族歴、自覚症状、食事や運動などの生活習慣等のアンケート調査を行った。

3. 被験者の身体測定を含む背景、アンケート調査、腹部超音波検査、血液検査などのデータより経時的変化も含めてデータベースを構築した。

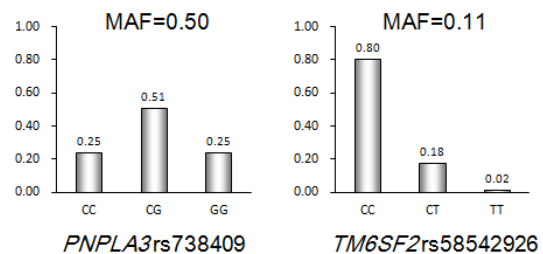
4. 被験者より採取した血液検体より血清、血漿、ゲノム DNA を抽出して解析に供した。ゲノム DNA を用いて、GWAS を含め関連性が報告されている主要な肥満関連遺伝子および脂肪性肝疾患関連遺伝子の一塩基多型 (SNPs) について TaqMan 法を用いて解析し、肥満、NAFLD、肝機能異常の有無とそれらの経時的変化との関連を、血中脂質レベルのデータも併せて統計学的手法を用いて解析した。脂肪性肝疾患関連は、*PNPLA3* (rs738409)、*TM6SF2* (rs58542926)、肥満関連は *FTO* (rs1558902) を中心に解析した。

4. 研究成果

被験者の背景解析では、97%の被験者で入学一年前より体重が増加 (平均で 8.1 kg) しており、被験者の 56% が腹部超音波検査で明らかな脂肪肝を伴っていた。入学後の経過では 30% で入学時より体重減少が減少しており、入学時に脂肪肝を認めた学生の 26% で、脂肪肝の改善が見られた。すなわち、対象とした集団は受験期による運動の低下および栄養過多による体脂肪増加を比較的短期間に来した脂肪肝モデルを含む集団と考えられた。背景因子の検討では、肥満および肝酵素が入学時の脂肪肝発症と有意な関連を示した。

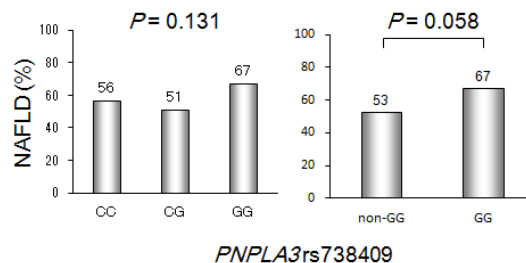
PNPLA3 と *TM6SF2* 遺伝子の minor allele の頻度 (MAF) は既報よりやや高頻度に見られた。原因の一つとしては、肝酵素値異常 (すなわち脂肪肝) を理由に組み入れている集団を含むことによるバイアスの影響が考えられた。

Frequency of rs738409 and rs58542926 Genotypes



代表的な脂肪肝関連遺伝子多型である *PNPLA3* において、被験者のサブ解析では脂肪肝と関連する傾向を認めたが、全例での解析では傾向はみられるものの有意な関連は認めなかった。これは従来の *PNPLA3* 遺伝子多型の脂肪肝との強い関連からは意外な結果であった。対象集団が成人の生活習慣に伴う慢性的な肥満に基づく脂肪肝と異なり、上記の様に短期間に生じた若年成人の脂肪肝であること、解析対象が血液検査異常を来した集団であることに起因する可能性が考えられた。

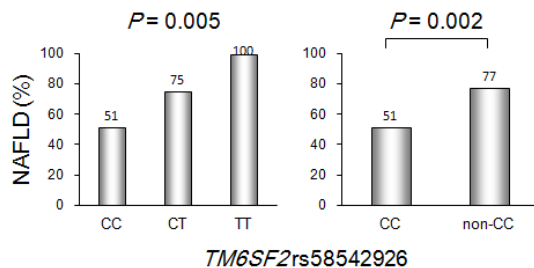
Prevalence of NAFLD according to rs738409 Genotype



一方、*TM6SF2* 遺伝子変異は脂肪肝と有意

な関連を示し、多変量解析でも肥満、*PNPLA3*とは独立した有意な脂肪肝関連因子である事を見出した。すなわち、本研究対象における肝臓の脂肪化に関しては、*TM6SF2* 遺伝子多型の方が *PNPLA3* 遺伝子多型より強い関連を示した。

Prevalence of NAFLD according to rs58542926 Genotype

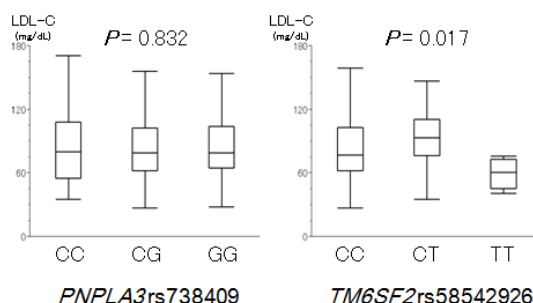


脂肪肝の経時的検討において、*TM6SF2* 遺伝子多型が脂肪肝の持続と関連する傾向が見られた。このことは一見矛盾している様にも考えられる。しかし、*TM6SF2* 遺伝子多型により脂肪肝のリスクを有する例では、有さない例より体脂肪の増加に伴って脂肪肝をより発症し易いと考えられる。そのため、大学入学後に体重増加が改善することにより、*TM6SF2* 遺伝子多型を背景として発症した脂肪肝症例では、脂肪沈着が改善し易いと考えられた。さらに、*TM6SF2* 変異では、肥満度により脂肪肝の有病率が増加する相対的関係を認めており、このことが経時的な脂肪肝の変化における *TM6SF2* 遺伝子多型に関する知見の裏付けとなる。

一方、肥満関連遺伝子と脂肪肝関連遺伝子多型、脂肪肝との有意な関連は見出されなかった。すなわち、脂肪肝関連遺伝子多型に基づく脂肪肝の発症には肥満遺伝子多型に基づく肥満の影響は少ないことが示唆された。

脂肪肝関連遺伝子の中には血中脂質特性に関連するものも報告されている。そこで血中脂質とこれら遺伝子多型との関連を解析したところ、*PNPLA3* 遺伝子多型では中性脂肪、HDL-C、LDL-C のいずれとも有意な関連を認めない一方で、*TM6SF2* 遺伝子多型では LDL-C 低

LDL-C Levels According to the Genotypes



値との関連を認めた。すなわち、*TM6SF2* 遺伝子は肝細胞からの VLDL 分泌に関与していることからその機能低下による血中 LDL-C の低下が考えられた。一方で、*PNPLA3* 遺伝子多型は細胞内脂肪滴からの中性脂肪の遊離に関与しており、その機能低下による細胞の脂肪蓄積に関与しているが、血中脂質特性への関与は乏しいと考えられた。

非アルコール性脂肪性肝疾患のうち進行性の病態である NASH では、末梢血白血球分画の偏りが報告されている。*TM6SF2* 遺伝子多型では認められなかったが、*PNPLA3* 遺伝子多型において末梢血白血球分類の偏りを見出した。すなわち、末梢血白血球の好中球とリンパ球の比率に差が認められた。このことは、ケモカインを介した遊走による肝臓への好中球の浸潤と言った NASH の病態の反映が示唆された。すなわち、*PNPLA3* 遺伝子多型と NASH の病態との関連を示唆する所見と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

岩崎良章、中山 光、池田房雄、若年成人 NAFLD における遺伝子多型と脂質代謝、肝臓、査読無、75 巻、2017、(印刷中)

〔学会発表〕(計 2 件)

Yoshiaki Iwasaki, Hikari Koga-Nakayama, Fusao Ikeda, Hiroyuki Okada, Toshio Ogura, A common variant in the *PNPLA3* in university students with non-alcoholic fatty liver disease, 25th Asia-Pacific Study of the Liver (APASL 2016), February 23rd, 2016, Grand Prince Hotel Shin-Takanawa, Minato-ku, Tokyo, Japan.

岩崎良章、中山 光、池田房雄、若年成人の非アルコール性脂肪性肝疾患における *TM6SF2* 遺伝子多型と脂質代謝の検討、第 20 回日本肝臓学会大会 (ワークショップ 口演) 2016 年 11 月 4 日、神戸コンベンションセンター (兵庫県神戸市)

〔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

古賀 光 (KOGA, Hikari)
岡山大学・保健管理センター・客員研究員
研究者番号：90596131

(2) 研究分担者

岩崎 良章 (IWASAKI, Yoshiaki)
岡山大学・保健管理センター・教授
研究者番号：00314667

(3) 連携研究者

無し

(4) 研究協力者

無し