

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 28 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26251050

研究課題名(和文)日本人の寒冷適応能を構成する遺伝的要因と生理的要因の検証

研究課題名(英文)Genetic and physiological factors that constitute cold adaptability in Japanese.

研究代表者

綿貫 茂喜(Watanuki, Shigeki)

九州大学・芸術工学研究院・教授

研究者番号：00158677

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 30,100,000円

研究成果の概要(和文)：本課題は現代日本人の寒冷適応能について、特に産熱機能の生理的多型と遺伝的要因の関連を明らかにすることを目的とし、ヒトの寒冷曝露時の産熱反応と産熱に関与する脱共役タンパク質1(UCP1)遺伝子多型との関連を検証した。その結果、UCP1遺伝子の一塩基多型であるrs1800592と産熱反応に有意な関連があり、加えて最も産熱すると考えられるハプロタイプは高緯度地域、低気温地域で多かった。以上から、日本人の寒冷適応に関連する生理的多型の一部が遺伝的要因に影響を受けることを示した。さらに、生理データ、遺伝学的解析、地理情報を組み合わせた本課題は、人類の適応史を明らかにする新しいアプローチを提示した。

研究成果の概要(英文)：We aimed to clear the relationship between genetic polymorphism and physiological polytypism of thermogenesis in Japanese. In this research, we focused on UCP1 genotype that affects human non-shivering thermogenesis (NST), and we examined the difference of NST among the UCP1 genotypes (rs1800592, etc.).

We showed that the degree of NST was significantly different among UCP1 genotypes. In addition, we found that the frequency of the haplotype with the highest NST was significantly correlated with latitudes and ambient temperature. Thus, the data provide the first evidence that the UCP1 genotype alters the efficiency of NST in humans, and likely supports the hypothesis that the UCP1 gene has been related to human cold adaptation. In conclusion, physiological polytypism of human cold adaptability was affected by genetic polymorphism, and our methodological approach such as using physiological, genetic, geographical data was progressive way of understanding human evolutionary history.

研究分野：人類学

キーワード：生理的多型 遺伝的多型 体温調節 寒冷適応

1. 研究開始当初の背景

我々、現生人類(ホモ・サピエンス)は約16~20万年前にアフリカで誕生したとされる。彼らは誕生以来の数万年をアフリカで過ごしたが、一部の集団が約6~10万年前にアフリカを出発し、世界中に拡散した。その拡散は、氷河期の中に行われ、過酷な環境の中、わずか数万年で亜北極地帯まで進出した。そして氷河期が終わる約一万年前までには世界中へ居住域を広げた。すなわち、現生人類はそのアフリカ出発後の拡散の歴史の中で、当時が氷河期であったことを考えれば特に寒冷な気候へ適応してきたといえる。それらの適応は遺伝的、生理的に現代人の表現型に重要な影響を与えたと考えられる。

表現型の一例に生理的多型があり、生理人類学領域で議論されてきた。生理的多型とは、集団内において類似した反応を示す個体が一定頻度以上で存在する場合、それらをまとめ集団内の小集団として捉えることを意味する。そこで本研究では主に寒冷環境下の生理反応(主として耐寒性の生理的多型)と遺伝的多型に焦点をあて研究を進めることとした。

ヒトは寒冷環境に曝露されるとまず血管が収縮し、皮膚表面からの放熱を抑制する。血管収縮によって調整できる温度域は狭く、その範囲を超える強い寒冷刺激の場合は、震え産熱や非震え産熱などのエネルギー代謝によって体温を維持する。震え産熱は骨格筋の不随意的運動によって生じる熱であり、成人のヒトにおいて最も有力な体温維持機能と考えられている。一方で、近年は非震え産熱の主な熱源である褐色脂肪細胞が、成人のヒトでも観察され、大いに注目を集めている。この褐色脂肪は主にげっ歯類やヒトの乳児において観察される。褐色脂肪細胞内では、ミトコンドリアの酸化的リン酸化が、脱共役タンパク質1(UCP1: Uncoupling protein 1)というタンパク質の働きで阻害されることにより、大きな熱を得るという極めて効率的な産熱が行われている。これまではヒトは乳児においてのみ存在するとされてきたが、成人のヒトでも一定の割合で褐色脂肪を持つ個体があり、性差、年齢差、民族差等が議論されている。従って、ヒトの産熱機能においては従来とは異なり非震え産熱の役割を考慮する必要がある。

さらにヒトの生理反応は季節によって変化する。例えば上述の褐色脂肪の活性も夏期に比べて冬期で高いこと、さらに冬期では震えの発現が遅くなること等が知られている。これらは遺伝子の変化を伴わない可塑的な環境への適応である。一方、ヒトは遺伝子の変化に基づく環境適応も当然経験してきた。前述の通り、現生人類は出アフリカ後の拡散でヒトは様々な環境に適応する必要があった。出アフリカ後、氷河期に直面し、かつ高

緯度地域では寒冷への適応なくして生存は有り得なかったと考えられる。多くの研究者達が、この寒冷適応は遺伝子の変化が基礎となったと考えているが、どの遺伝子のどのような変化がそれに寄与したかは明らかでない。しかしながら、いくつかの先行研究から、褐色脂肪細胞の働きに関連するUCP1遺伝子を中心とした、エネルギー代謝に関連する遺伝子が、現生人類の寒冷適応と関連する可能性が示唆されている。従って、耐寒性の生理的多型を生み出す遺伝的多型があるとすれば、褐色脂肪細胞を中心とした非震え産熱に関連する遺伝子に着目すべきであると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、ヒトの耐寒性の生理的多型の中でも特に非震え産熱と遺伝的多型の関連を検証した。非震え産熱の発現に重要な役割を果たすUCP1遺伝子には、その機能に影響するSNP(Single nucleoside polymorphism:一塩基多型)が報告されており、集団遺伝学的解析からは、現生人類の過程において、正の自然淘汰を受けたことが報告されている。加えて、疫学的調査からはUCP1遺伝子多型が肥満と関連することも報告されている。以上から、UCP1遺伝子は人類の寒冷適応において重要な役割を果たしていることが示唆されているが、これまでの研究は間接的な証拠が主であり、実際に非震え産熱量とUCP1遺伝子多型との関連を報告した知見は見当たらない。そこで本研究は、生理実験によるヒトの生理データ、集団遺伝学的解析、地理情報を組み合わせた新しい手法により、人類の寒冷適応において重要な役割を果たしたと考えられるUCP1遺伝子多型とヒトの産熱機能のより直接的な証拠を得ることを大きな目的とした。

(1)褐色脂肪において発現しているUCP1には生理機能に影響するSNP(-3826 T/C rs1800592)の存在が報告されており、その変異はエネルギー代謝に影響を与え、特に肥満との関連が報告されている。さらにUCP1遺伝子における集団遺伝学的解析からは、-3826T/Cの変異は気候変動と強く関連することを示唆したことから、UCP1遺伝子多型は非震え産熱と密接に関係し、人類の寒冷適応において重要な意味を持つと考えられる。そこで、本実験では非震え産熱の産熱量に作用するとされたUCP1遺伝子の機能的SNP(-3826 T/C rs1800592)が、実際の寒冷曝露時(16)におけるヒトのエネルギー代謝反応に影響を与えるかを明らかにすることを目的とした。すなわち、この機能的SNPを含む6つのSNP(1:rs3113195、2:rs6536991、3:rs12502572、4:rs1800592、5:rs4956451、6:rs9995751)を選定し、ハプロタイプ解析を行うことで、各ハプロタイプと非震え産熱量の関係を検討した。仮説として先行研究が

ら SNP4 (-3826 T/C rs1800592) が C を持つと産熱量が小さくなる(太りやすい)とされることから、TT 型はその他のタイプに比べて寒冷曝露時の非震え産熱が大きいと考えられる。

(2) 研究(1)の結果から、最も産熱能力が高いハプロタイプが決定された。そこでそのタイプの世界各国における頻度を 1000 ゲノムプロジェクトのデータベースを用いて調べ、緯度や各国の平均気温情報との関連を明らかにすることを目的とした。

(3) 研究(1)(2)の結果から、寒冷適応と免疫機能に関連が見られた。そこでさらに追加実験を行い、唾液中の炎症物質にタイプ間で差があるかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、被験者には実験の目的、内容、個人情報への配慮等に加えて、遺伝子解析を行うことを十分に説明し、書面にて同意を得た上で実験を行った。倫理指針に則り、DNA 解析のため、九州大学大学院医学研究院ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会の承諾を得た上で、九州大学大学院芸術工学研究院実験倫理審査会の承認のもと行った。

(1) 47 名の男子大学生の同意を得た上で、身体測定後、遺伝子解析用に唾液を採取した。実験は冬期(12~3月)に行った。被験者は気温 28 の環境において椅座位安静の下、各種測定センサーをつけた後、16 と 28 の 2 条件で実験を開始した。被験者は来室約 1 時間後に人工気候室における寒冷曝露を開始した。測定項目は、直腸温、皮膚温(7ヶ所)、酸素摂取量、血圧、心電図、主観評価とした。直腸温プローブは肛門括約筋から 13cm の深さまで挿入した。皮膚温センサーは 7 点法によって前額、腹部、前腕部、手背部、大腿部、下腿部、足背部とし、サージカルテープを用いて貼り付け、データロガー(LT-8A、グラム社製)を使用し 2 秒毎に連続的に測定した。酸素摂取量は呼気ガス測定用マスク(ルドルフマスク、日本光電社製)を用いて、蛇管を通し MINATO 社製 AE-300S で測定した。測定は呼気モードで行い、吸気は大気濃度とし、呼気のみ酸素、二酸化炭素濃度を 5 分間隔で測定した。血圧はオムロン社製のデジタル自動血圧計(HEM-737 ファジィ)を用い 10 分毎に測定した。

(2) ハプロタイプ GnGTAn の頻度を 1000 ゲノムプロジェクトのデータベース(<http://www.internationalgenome.org/>)を用いて、アフリカ、アジア、ヨーロッパ各国の頻度を調べた。また各国首都の緯度はグーグルマップによって決定し、1900~2012 年の平均

気温は世界銀行による Climate Change Knowledge Portal によって算出した。

(3) 被験者は日本人男子大学生・大学院生 49 名(rs1800592 遺伝型は AA:14 名、GA+GG:35 名)とした。9 月(夏期)、3 月(冬期)に実施した。被験者は 3 時間以上の絶飲食の上で、ショートパンツと T シャツを着用、仰臥位安静状態で実験を行った。被験者は気温 28 の環境において 60 分の安静を経て、室温を 70 分で 5 まで下げ、その後 20 分間 5 に曝露した。生理測定は研究(1)と同様である。追加として、サイトカイン(IL-13)の測定は唾液を実験開始前、実験後の 2 回採取し、Bio-Plex Pro ヒトサイトカイン GI Th1/Th2 パネル(Bio-Rad, Hercules, California, USA)を用いて分析した。統計解析は時間と季節、rs1800592 遺伝型を要因とする 3 要因混合計画分散分析を行った。

4. 研究成果

(1) 仮説通り、SNP4:rs1800592 が TT を持つ 13 名では寒冷曝露開始後 60~90 分において酸素摂取量が有意に増加した。被験者は震えが生じてはいなかったため、これは非震え産熱と考えられる。さらに SNP4 以外にも SNP1、3、5 で酸素摂取量と有意な関連が見られた。これらの結果から、最も非震え産熱が大きいのは SNP1 が G、3 が G、4 が T、5 が A で、2 と 6 はどちらでもよい、GnGTAn タイプであると考えられた。このタイプは 47 名中 4 名しかいなかったが、それでも有意に寒冷曝露開始後 60~90 分において酸素摂取量が有意に増加した。これは UCP1 遺伝子多型と非震え産熱量との関連を生理データから明らかにした重要な結果であり、人類の寒冷適応において改めて UCP1 遺伝子と非震え産熱の重要性を支持したといえる。

(2) 研究(1)の結果を受けて、これまでは rs1800592 の頻度が高緯度地域で高いという報告があったが、産熱能力が高いと考えられる GnGTAn タイプはどのような頻度を示すかを調べた。その結果、GnGTAn タイプは緯度($r=0.94$)と平均気温($r=-0.76$)と強い相関を示し、rs1800592 と緯度($r=0.81$)・平均気温($r=-0.72$)よりも明らかに高い相関係数を示した。従って、GnGTAn タイプは特に寒冷的な地域において生存に有利だった可能性がある。加えて、UCP1 遺伝子と、その近傍にある ELMOD2 遺伝子が強く連鎖していることも明らかになった。ELMOD2 遺伝子はインターフェロンを介した抗ウイルス作用と関連する遺伝子として知られる。すなわち、高体温は肺と気管のウイルス増殖を抑制することが実証されており、UCP1 による体温維持と ELMOD2 による抗ウイルス作用が協働することで、単に寒冷環境に適応しただけではなく、未知のウイルスが存在するかもしれない未開の地で有利であった可能性を示し

た。これらの結果は、生理データ、集団遺伝学、地理情報を統合するアプローチから得られた、学際性の高い結果であった。

(3) 研究(2)から、免疫機能と *UCPI* 遺伝子の関連を探った。本研究では研究(1)より厳しい温度設定とし、震えが生じるまで寒冷曝露を実施した。その結果、直腸温は時間の主効果があり実験開始後5分で有意に低下し始めた。体重あたりの酸素摂取量は季節と時間の交互作用があり、30~40分で冬季のほうが低かった。収縮期血圧は実験開始後20分で有意に上昇した。拡張期血圧は季節と時間の交互作用があり40,70,90分で夏季のほうが高かった。心拍数は時間・季節・遺伝型の交互作用があり、産熱型であるAAタイプにおいては40~60,90分において冬期よりも夏期の心拍数が有意に低い($p=0.04$)のに対し、Gアレルをもつ被験者は始後10分でのみ夏期の心拍数が低かった($p=0.03$)。これらの関連は *UCPI* 遺伝子多型が交感神経系の活動に影響する可能性を示唆した。一方で、炎症物質の結果については、サイトカインのIL-13はAA:6名、Gアレル:12名で統計解析を行い、遺伝タイプ×実験前後の2要因分散分析を行った結果、冬期に遺伝×前後の交互作用があり、下位検定でAAタイプにおいて実験前後で差がある傾向($p=0.089$)があった。しかしながら、欠損値が多かったため、免疫機能と *UCPI* 遺伝子、産熱機能の関連を明らかにするためには、さらに研究が必要である。

以上の成果から、日本人の寒冷適応に関連する生理的多型の一部が遺伝要因に影響を受けることを示した。さらに産熱能力が高いと推定されるハプロタイプが、高緯度や平均気温と関連を示したことは、人類の適応史を明らかにする上で新しいアプローチを示したと言える。人類の環境適応能を解明することは、現在進んでいる地球温暖化にどのように対応していくか、寒冷や高地適応からもたらされた現代人の表現型がどのような意味を持つのか、という点で人類の未来に密接に関わってくる。特に、寒さに強い、風邪をひかないということなどは一般社会において極めて日常的な事柄である。その事を糸口として、本研究の成果を社会に還元しつつ、残された課題とともにさらに研究を進めていく。

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36件)

1. 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*, 36:16, 2017
DOI: 10.1186/s40101-017-0132-z
2. Boonvisut S, Nakayama K, Makishima S et al. 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*, 15:8, 2016
DOI: 10.1186/s12944-016-0181-z
3. Motoi M, Nishimura T, ... Watanuki S. Relationship between mitochondrial haplogroup and physiological responses to hypobaric hypoxia. *J Physiol Anthropol*, 35:12, 2016
DOI: 10.1186/s40101-016-0094-6
4. Koganebuchi K, Haneji K, ... H. Oota et al. The allele frequency of *ALDH2*Glu504Lys* and *ADH1B*Arg47His* for the Ryukyu islanders and their history of expansion among East Asians. *American Journal of Human Biology*. 29(2):e22933, 2016
DOI: 10.1002/1jhb.22933
5. Iwamoto S, Boonvisut S, ... Nakayama K et al. The role of *TRIB1* in lipid metabolism; from genetics to pathways. *Biochem Soc Trans*. 43, 2015, pp1063-1068
DOI: 10.1042/BST20150094
6. Nishimura T, Motoi M, ... Watanuki S et al. Seasonal variation of non-shivering thermogenesis (NST) during mild cold exposure. *Journal of Physiological Anthropology*. 34:11, 2015
DOI: 10.1186/s40101-015-0051-9.
7. Nakagome S, Sato T, ... H. Oota et al. The Asian DNA Repository Consortium. Model-based verification of hypotheses on the origin of modern Japanese revisited by Bayesian inference based on genome-wide SNP data. *Molecular Biology and Evolution*. 32(6), 2015, pp1533-1543
DOI: 10.1093/molbev/msv045
8. Takakura J, Nishimura T, ... Watanuki S et al. Nonthermal sensory input and altered human thermoregulation: effects of visual information depicting hot or cold environments. *International Journal of Biometeorology*. 59, 2015, pp1453-1460
DOI: 10.1007/s00484-015-0956-3
9. 西村貴孝, 綿貫茂喜. 現代日本人の生理的多型を構成する遺伝要因の検証. *日本生理人類学会誌*, 20, 2015, pp39-44
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110009923845>
10. 西村貴孝. ヒトの生理値から集団を科学する: 人類の寒冷適応と産熱機能の生理的多型. *日本生理人類学会誌*, 19, 2014, pp269-273
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110009878932>
11. Nishimura T, Watanuki S. Relationship between mitochondrial haplogroup

and seasonal changes of physiological responses to cold. *Journal of Physiological Anthropology*, 33:27, 2014
DOI: 10.1186/1880-6805-33-27.

12. 中山一大, 宮下洋, 岩本禎彦. 健診集団試料を用いた MLXIPL Gln241His 多型の適応的意義の検討. *日本生理人類学会誌*, 19, pp63-67, 2014
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110009818792>
13. Nakayama K, Watanabe K, Boonvisut S et al. Common variants of GIP are associated with visceral fat accumulation in Japanese adults. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 307, pp1108-1114, 2014
DOI: 10.1152/ajpgi.00282.2014
14. Nakayama K, Miyashita H, Iwamoto S. Seasonal effects of the UCP3 and the RPTOR gene polymorphisms on obesity traits in Japanese adults. *Journal of Physiological Anthropology*. 33:38, 2014
DOI: 10.1186/1880-6805-33-38
15. Sato T, Nakagome S, ... Oota H et al. Genome-Wide SNP Analysis Reveals Population Structure and Demographic History of the Ryukyu Islanders in the Southern Part of the Japanese Archipelago. *Molecular Biology and Evolution*, 31, pp2929-2940, 2014
DOI: 1093/Pii:msu230.[Epub ahead of print]

他 21 報

[学会発表](計 42 件)

1. Oota H. A trial for reconstructing human population history in the Japanese archipelago ~ through the simulation based on genome-wide data and ancient DNA analyses. *The Genome Evolution at Mishima*. Mar. 27-29, 2017, Mishima, Japan
2. 中山一大, 渡邊和寿, Munkhtulga Lkhagvasuren ら. 遊牧民族と農耕民族のゲノムワイドメチル化パターンの比較. *日本生理人類学会第 74 回大会*, 2016 年 10 月 23 日, 石川県七尾市
3. 太田博樹. ゲノム人類学から見た双子研究. *日本生理人類学会第 74 回大会 シンポジウム「遺伝を通してヒトを理解する」* 2016 年 10 月 22 日, 石川
4. 中山一大. ゲノムワイド SNP 情報から表現型へのアプローチ: ヒトでの研究例を中心に. *日本比較臨床医学会第 47 回学術集会シンポジウム*. 2016 年 10 月 16 日, 武蔵野市
5. 太田博樹. The preliminary report for the NGS analyses of the Jomon genome from the western part of the Japanese archipelago. *日本進化学会 第 18 回大会ワークショップ 6「ヒトのゲノム進化」* 2016 年 8 月 26 日, 東京
6. Nishimura T, ... Oota H, Watanuki S. UCP1

genotype changes non-shivering thermogenesis under mild cold environment. *Conference of "Modernization and Health in the Asia-Pacific Region"* Aug 19-20, 2016, Hilo, Hawaii, USA

7. 本井碧, ... 西村貴孝, 綿貫茂喜ら. 低酸素環境下における事象関連電位とミトコンドリア DNA ハプロタイプの関連. *日本生理人類学会第 73 回大会*, 2016 年 6 月 4-5 日, 大阪
8. Nakayama K, Ohashi J, Munkhtulga L, et al. Detection of Population Specific Signals of Positive Selection in Mongolians. *The 13th International Congress of Human Genetics*, Apr. 5, 2016, Kyoto, Japan
9. Nakayama K. Identification of Genetic Variants for Visceral Fat Accumulation in Japanese. *The 12th International Congress of Physiological Anthropology*. 2015 年 10 月 29 日, 千葉
10. 中山一大, 大橋順, ルハグワスレン・ムンフトルガら. 高密度 SNP ジェノタイピングによるモンゴル人特異的な自然選択の検出. *第 69 回日本人類学会大会*, 2015 年 10 月 10-12 日, 東京
11. 西村貴孝, ... 太田博樹, 綿貫茂喜ら. 寒冷適応に関わる UCP1 遺伝子型間の違い. *第 69 回日本人類学会大会*, 2015 年 10 月 10-12 日, 東京
12. 松前ひろみ, 小金淵佳江, ... 太田博樹ら. 次世代シーケンサーによる北海道アイヌの全ゲノム配列解析. *第 69 回日本人類学会大会*, 2015 年 10 月 10-12 日, 東京
13. Nakayama K. Genetics of fat distribution and metabolism: Perspectives from human evolution. *International Symposium on Human Adaptation to Environment and Whole-body Coordination 2015*, 2015 年 3 月, 神戸
14. 中山一大, 大橋順, 香川靖雄ら. アジア・オセアニア人における代謝特性の民族差の理解を目指したゲノムワイド SNP 研究. *第 68 回日本人類学会大会*, 2014 年 11 月, 浜松
15. Nakayama K. Genetic variation of the Tribbles family and metabolic syndrome. *The 11th International Nikko Symposium*, 2014 年 10 月, 下野
16. 中山一大, 宮下洋, 渡邊和寿ら. GIP および GIPR の遺伝的多型は日本人成人の内臓脂肪蓄積と関連する. *第 35 回日本肥満学会*, 2014 年 10 月, 宮崎
17. 西村貴孝. ヒトの生理値から集団を科学する. *日本生理人類学会第 70 回大会*, 2014 年 6 月, 福岡
18. 中山一大, 大橋順, Munkhtulga Lkhagvasuren ら. モンゴル人と東アジア農耕民族の代謝特性の解明を目指した

ゲノム人類学研究. 第 68 回日本栄養・食糧学会大会, 2014 年 5 月, 札幌

他 24 報

〔図書〕(計 2 件)

1. 西村貴孝他(日本生理人類学会編集). 人間科学の百科事典. 丸善出版, 2015, 総 700 頁

他 1 件

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

綿貫 茂喜 (WATANUKI SHIGEKI)

九州大学・芸術工学研究院・教授

研究者番号: 00158677

(2) 研究分担者

太田 博樹 (OTA HIROKI)

北里大学・医学部・准教授

研究者番号: 40401228

(3) 研究分担者

中山 一大 (NAKAYAMA KAZUHIRO)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号: 80091370

(4) 研究分担者

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

(5) 研究分担者

星 良和 (HOSHI YOSHIKAZU)

東海大学・農学部・教授

研究者番号: 70332088