

令和 2 年 5 月 30 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08985

研究課題名(和文) 一般住民において、レジスチン遺伝子多型が耐糖能異常に及ぼす影響とメカニズムの解明

研究課題名(英文) The influence of resistin SNPs on glucose intolerance in general population

研究代表者

高田 康德 (Takata, Yasunori)

愛媛大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：20432792

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)：正常血糖の一般住民において生活環境によるエピジェネティクスが耐糖能に及ぼす影響を調べるため、レジスチンプロモータのCpG SNP-420についてメチル化の評価を行った。その結果、CpG SNP-420がG/G型の場合はメチル化を受けず遺伝子転写が抑制されないため血中レジスチンはC/C型およびC/G型に比較し高値となる。また、75gOGTTで正常血糖でと診断されてもG/G型では年齢・性で調整後も既にBMIやインスリン抵抗性が悪化していた。これらの結果から、レジスチンCpG SNP-420がG/G型の場合、加齢や生活習慣とは独立した糖尿病発症リスクとして若年期からの生活介入が有用であると思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、通常の健診では血糖が正常と判定されている一般住民が将来糖尿病に進展するリスク因子を明らかにすることができた。レジスチンプロモータのCpG-SNP420がG/G型の場合、生活環境による遺伝子転写抑制がないため、加齢や生活習慣によらない耐糖能異常発症のリスクであると思われる。更に、この集団において、ニューラルネットワークから得られた予測因子を組み合わせれば、より正確に将来糖尿病を発症する者を絞り込むことができると考えられる。従って、住民全員を対象とした生活指導から、これらの対象者に集中して早期から生活介入を行えば、費用対効果にすぐれた個別化予防医療となり得るとと思われる。

研究成果の概要(英文)：To investigate the effect of epigenetics on glucose intolerance, we evaluated the association between DNA methylation status of CpG SNP-420 in resistin promoter and serum resistin levels in the general population with normal glucose tolerance. When SNP-420 was G/G genotype, CpG methylation was not observed, as the result, serum resistin levels were higher in subject with G/G genotype than C/C and C/G genotype. Furthermore, even in the subjects with normal glucose tolerance, BMI and insulin resistance were deteriorated in G/G genotype regardless of age and sex. These results suggest that, when the resistin CpG SNP-420 is G/G genotype, the lifestyle intervention from juvenile seems to be useful as a risk reduction of the onset of diabetes.

研究分野：糖尿病

キーワード：糖尿病 レジスチン 一塩基多型(SNP) 環境因子 メチル化 生活習慣病

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

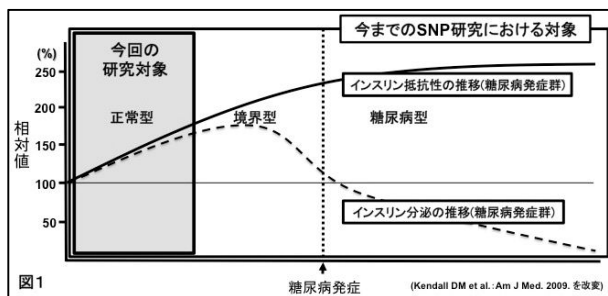
本邦において、肥満や2型糖尿病の罹患率は増加の一途をたどり、社会問題になっている。これらの生活習慣病を克服するためには、早期からの生活習慣への介入による予防医学が重要である。現状では、住民健診などにおいて、国民に対し一律に予防対策が行われているが、費用対効果の面からも、今後は、発症予知因子による早期からのハイリスク者の絞り込みと、生活への介入を行う個別化医療が必要となる。この実現のためには、(1)将来の糖尿病発症を予測できる因子の探索、あるいは(2)疾患のリスクを高める感受性遺伝子の同定が鍵となる。

図1は、日本人の糖尿病の約95%をしめる2型糖尿病の患者が正常耐糖能(正常型)から境界型、糖尿病型へと移行する過程を示している。この過程において、特徴的なことは、将来糖尿病に移行する対象では、正常耐糖能の時点から、徐々に、インスリン抵抗性が増悪し、それを補うためにインスリン分泌は増加する。一方、境界型の途中でインスリン分泌はピークを迎え、以後、相対的にインスリン分泌は低下し、インスリン抵抗性を代償できなくなり糖尿病型に至る。従って、糖尿病の予防の観点からはこのインスリン抵抗性をいかに早期に抑制できるかが重要なカギとなる。

以前より我々は、インスリン抵抗性に関連する因子としてレジスチンに注目

している。レジスチン遺伝子の一塩基多型(single nucleotide polymorphism; SNP)を調べた結果、血中レジスチンレベルやSNP-420、SNP-358など複数の遺伝子型が、インスリン抵抗性、2型糖尿病や心血管病の発症に関連する事を報告した(Am J Hum Genet.2004, Diabetes Care.2007, Hypertension.2008, PLoS One. 2010, Diabetes. 2012)。

このような背景から、レジスチン遺伝子のSNPや特定のバイオマーカーなどを用いたハイリスク者の同定により、従来の健診では血糖正常と判断される対象において、インスリン抵抗性が生じ始めた時点での生活への介入が有効ではないかと考えた



2. 研究の目的

本研究では、正常耐糖能の一般住民における前向き研究において、(1)レジスチン遺伝子のSNPが血中レジスチン値やインスリン抵抗性に及ぼす影響について検討する、(2)またそのメカニズムを分子生物学的手法を用いて明らかにする、(3)生活環境がレジスチン遺伝子のメチル化と血中濃度に及ぼす影響を明らかにする、(4)将来の耐糖能異常(境界型糖尿病+糖尿病)発症を予測できる因子を網羅的にニューラルネットワークにより探索することである。

3. 研究の方法

(1)2009年に開始した我々のコホート研究の5年後の前向き調査の第二期として一般住民の検診を行った。更に、2019年からは第三期(10年目)が開始された。保存採血(DNA, RNA, 血清、血漿)の採取を行った。非糖尿病患者全員に75gOGTT負荷試験を行い、0、1、2時間の血糖および、インスリンを測定し、5年間での糖尿病あるいは境界型への進展を調べ、Matsuda index、HOMA2-IR、HOMA2-%S、HOMA-2Bなどのインスリン抵抗性・感受性指標の算出を行った。更にELISAを用いて全員の血中レジスチンの値を測定した。

(2)レジスチンがインスリン抵抗性や炎症に影響を及ぼすメカニズムを明らかにするために、whole blood cell RNAを用いたDNAarray, RNA-seq, qRT-PCRで解析した。また、ELISAによる血中サイトカインの測定を行った。

(3)生活環境がレジスチン遺伝子のメチル化に及ぼす影響(エピジェネティクス)を調べるためにパイロシーケンスを用いてレジスチンプロモータのCpG領域についてメチル化の評価を行った。

(4)前後5年間のfollow upデータを元に、5年間で耐糖能が正常型から境界型あるいは糖尿病型に悪化した症例について、その予測因子を登録時(5年前)のデータから予測できるか否か、機械学習(ニューラルネットワーク)を用いて検討した。

4. 研究成果

(1) コホート研究の5年後の前向き調査の第二期として follow up 1450名、新規登録382名合計1832名の一般住民の検診を行った。更に、2019年からは第三期(10年目)が開始され follow up 263名、新規登録91名合計355名の一般住民の検診を行った。また、保存採血(DNA, RNA, 血清、血漿)の採取を行った。非糖尿病患者全員に75gOGTT負荷試験を行い、0、1、2時間の血糖および、インスリンを測定し、5年間での糖尿病あるいは境界型への進展を調べた。更に、Matsuda index、HOMA2-IR、HOMA2-%S、HOMA-2Bなどのインスリン抵抗性・感受性指標の算出を行った。更にELISAを用いて全員の血中レジスチンの値を測定した。

まず75gOGTT負荷試験の結果から正常血糖群のみ1367名を抽出し、血中レジスチンと各種インスリン抵抗性・感受性指標の関連について調べた。その結果、年齢、性で調整後も血中レジスチン値が高値になるほどBMI、Matsuda index、HOMA2-IR、HOMA-2Bは悪化していた。このことから、正常血糖群であっても、すなわち健診では正常と判断される群であっても血中レジスチンが高値であれば耐糖能が悪化の方向にあることが示唆された。

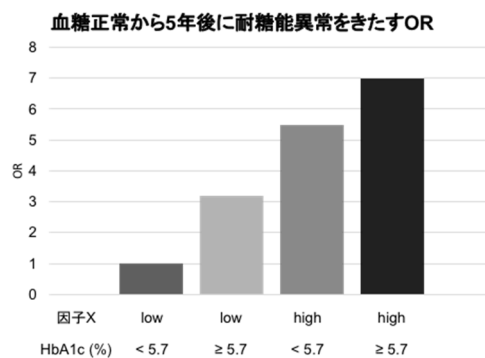
(2) レジスチンがインスリン抵抗性や炎症、動脈硬化に影響を及ぼすメカニズムを明らかにするために、正常耐糖能の集団から血中レジスチンが高い群(平均31ng/ml, n=13)と低い群(平均6ng/ml, n=15)の血中から whole blood cell RNAを抽出し、DNA array、RNA-seq、qRT-PCRで解析した。その結果、レジスチンが高値の群では、M1-macrophageに関連する遺伝子の発現が上昇していた。ELISAによる血中サイトカインの測定でも同様であった。このことから、レジスチンはM1-macrophageに関連する遺伝子を介して慢性炎症をおこし、インスリン抵抗性を惹起している可能性が示唆された。

(3) 生活環境がレジスチンの発現に与える影響(エピジェネティクス)を調べるために1104サンプルについてパイロシーケンスを用いてレジスチンプロモータのCpG-SNP 420についてメチル化の評価を行った。その結果、そのSNPによりCpGとなり得るSNP-420 C/C型およびC/G型において、年齢・性・BMIで調整後もメチル化率と血中レジスチン値は負の相関を認めた。一方CpGになり得ないSNP-420 G/G型の場合にはメチル化率と血中レジスチン値には相関を認めなかった。

そこで、正常血糖群においてレジスチンプロモータ上のSNP-420型についてCpGとなり得るメチル化を受けるC/C型およびC/G型2つのSNPとCpGとならないためにメチル化を受けないSNP-420 G/G型でインスリン抵抗性・感受性指標の比較を行った。その結果、年齢・性で調整後もメチル化を受けないSNP-420 G/G型においてBMI、HOMA-IR、HOMA2-IR、HOMA-2Bは悪化していた。従って、正常血糖群においてもレジスチンSNP-420 G/G型の場合には生活に依らない耐糖能異常発症のリスクであることが示唆された。

(4) 更に生活環境・加齢の影響を調べるために5年間のfollow upデータを元に、5年間で耐糖能が正常型から境界型あるいは糖尿病型に悪化した症例について、その予測因子を登録時のデータから予測できるか否か、機械学習(ニューラルネットワーク)を用いて検討した。

正常血糖群のうち、981人において5年間の比較が可能であった。このうち185人(19%)が正常から耐糖能異常(境界型+糖尿病型)に悪化していた。ニューラルネットワークを用いて、5年前の検査結果をもとに検討した結果、5年後の血糖悪化の予測因子としてXを同定した。更に、これとHbA1cを組み合わせると、ROC解析から得られたカットオフ値より両方が高値の群では、両方が低値の群に比較し5年後の耐糖能異常発症のodds ratioは7であった。



(5) 以上の結果から、正常血糖群であってもレジスチンプロモータのCpG-SNP420がG/Gの場合、生活環境によるエピジェネティクスによりレジスチン遺伝子転写が抑制されることがないため、BMIやインスリン抵抗性が高くなり、加齢や生活習慣によらない耐糖能異常発症のリスクとなっていると思われる。更に、この集団において、ニューラルネットワークから得られた予測因子を組み合わせれば、より正確に将来糖尿病を発症する者を絞り込むことができると考えられる。これらの対象者に若年期から生活への介入を行えば、費用対効果にすぐれた個別化予防医療となり得る。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Saito I, Takata Y, Maruyama K, Eguchi E, Kato T, Shirahama R, Tomooka K, Kawamura R, Sano M, Tabara Y, Osawa H, Tanigawa T.	4. 巻 31
2. 論文標題 Association Between Heart Rate Variability and Home Blood Pressure: The Toon Health Study.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Hypertens.	6. 最初と最後の頁 1120-1126
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/ajh/hpy100.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Noumi Y, Kawamura R, Tabara Y, Maruyama K, Takata Y, Nishida W, Okamoto A, Nishimiya T, Onuma H, Saito I, Tanigawa T, Osawa H.	4. 巻 88
2. 論文標題 An inverse association between serum resistin levels and n-3 polyunsaturated fatty acids intake was strongest in the SNP-420 G/G genotype in the Japanese cohort: The Toon Genome Study.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin Endocrinol (Oxf)	6. 最初と最後の頁 51-57
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cen.13500.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Onuma Hiroshi, Kawamura Ryoichi, Tabara Yasuharu, Yamashita Masakatsu, Ohashi Jun, Kawasaki Eiji, Imagawa Akihisa, Yamada Yuya, Chujo Daisuke, Takahashi Kenji, Suehiro Tadashi, Takata Yasunori, Osawa Haruhiko, Makino Hideichi	4. 巻 10
2. 論文標題 Variants in the BACH2 and CLEC16A gene might be associated with susceptibility to insulin triggered type2 diabetes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 1447 ~ 1453
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jdi.13057	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sugimoto Ken, Tabara Yasuharu, Ikegami Hiroshi, Takata Yasunori, Osawa Haruhiko, Hiromine Yoshihisa, Rakugi Hiromi et al.	4. 巻 10
2. 論文標題 Hyperglycemia in non obese patients with type2 diabetes is associated with low muscle mass: The Multicenter Study for Clarifying Evidence for Sarcopenia in Patients with Diabetes Mellitus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 1471 ~ 1479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takakado Misaki, Takata Yasunori, Yamagata Fumio, Yaguchi Michiko, Hiasa Go, Sato Sumiko, Funada Jun-ichi, Kawazu Shoji, Osawa Haruhiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Simple and non-invasive screening method for diabetes based on myoinositol levels in urine samples collected at home	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMJ Open Diabetes Research & Care	6. 最初と最後の頁 e000984 ~ e000984
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bmjdr-2019-000984	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yokoyama Maki, Saito Isao, Ueno Megumi, Kato Hiroaki, Yoshida Ayaka, Kawamura Ryoichi, Maruyama Koutatsu, Takata Yasunori, Osawa Haruhiko, Tanigawa Takeshi, Sugiyama Takashi	4. 巻 April
2. 論文標題 Low birthweight is associated with type2 diabetes mellitus in Japanese adults: The Toon Health Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 ahead of print
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13274	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 高田康徳
2. 発表標題 HDL2の低値と糖尿病発症の関連には、インスリン抵抗性に加えコレステロール逆転送系の機能低下が関与している可能性がある
3. 学会等名 日本糖尿病学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高田康徳
2. 発表標題 疾患感受性遺伝子と環境因子～レジスチンSNからの知見～
3. 学会等名 第67回日本体質医学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高田康徳
2. 発表標題 「臓器脂質代謝異常へのアプローチ」 糖尿病患者における動脈硬化進展のメカニズム
3. 学会等名 第59回日本臨床化学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	川村 良一 (Kawamura Ryoichi) (90533092)	愛媛大学・医学系研究科・講師 (16301)	
研究分担者	大沼 裕 (Onuma Hiroshi) (00294794)	東京女子医科大学・医学部・准教授 (32653)	
研究分担者	大澤 春彦 (Osawa Haruhiko) (90294800)	愛媛大学・医学系研究科・教授 (16301)	