

平成 21 年 5 月 10 日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007 ~ 2008

課題番号：19591038

研究課題名（和文）ヒト内臓脂肪の発現解析によるメタボリックシンドローム発症分子機構の解明

研究課題名（英文）Clarification of developing metabolic syndrome by using expression analysis of human visceral adipose tissue

研究代表者

原 一雄(HARA KAZUO)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号 50359600

研究成果の概要：ヒト脂肪組織で、肥満で発現が亢進していることが報告されているレプチン、IL18 遺伝子については BMI と正の相関を認め、逆に肥満で発現が低下するアディポネクチンは BMI と負の相関を認め、ヒト脂肪組織の発現解析によってメタボリックシンドロームの病態に関与する新たなアディポカインの同定に役立つ可能性が確認された。我々が新規 2 型糖尿病遺伝子として同定した遺伝子 X について遺伝子多型と遺伝子発現が相関することを確認した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	1,700,000	510,000	2,210,000
20年度	1,900,000	570,000	2,470,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：脂肪細胞、メタボリックシンドローム、インスリン抵抗性、遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

これまで報告された糖尿病感受性遺伝子の多型のほぼ全てがイントロンに位置していることから、これらの遺伝子多型は当該遺伝子の発現を変化させることによって糖尿病を発症させやすくしていると推定されている。しかしながら糖尿病の病態に深く関与している臓器について、実際のヒト組織を利用した解析を行って、遺伝子多型が遺伝子発現の変化を惹起しているかヒト組織を利用して網羅的に検討した研究は皆無である

2. 研究の目的

糖尿病感受性遺伝子多型が実際にヒト組織で生物学的な意義を持っているか、ヒト組織における感受性遺伝子多型の遺伝子型と当該遺伝子の発現レベルの相関を解析することによって明らかにする。糖尿病リスクアリル保持者で発現が低下している場合には、遺伝子欠損マウスと、逆に遺伝子発現がリスクアリル保持者で上昇しているようであれば、過剰発現マウスの発現型が、当該遺伝子の

糖尿病発症における役割の推測に有用であることが分かる

3. 研究の方法

文書による同意を得た上で、外科手術の際に得られた脂肪組織について Affymetrics Human Genome U133 Plus 2 (54675 probe) を用いた網羅的発現解析を行う。これまで肥満で発現が変化していることが報告されている遺伝子について遺伝子発現と肥満との相関を検討し、得られた脂肪組織が本研究に利用可能か妥当性について確認する。また、糖尿病・メタボリックシンドローム関連の臨床的諸指標（腹囲、空腹時血糖値、空腹時インスリン値、HOMA(homeostasis model assessment)によるインスリン抵抗性指標{空腹時インスリン(U/ml)×空腹時血糖値(mg/dl)/405}、総コレステロール値、HDL-コレステロール値、中性脂肪値、収縮期・拡張期血圧、糖尿病・高血圧・高脂血症・肥満の家族歴など)を網羅的に収集する。Affymetrics Human Genome U133 Plus 2 (54675 probe)による発現プロファイリングを行い、これまでに肥満によって発現が変化していることが明らかになっている遺伝子について実際に発現の変化が捉えられるかを確認する。

また、遺伝子発現解析で有望な候補遺伝子が、これまでに行われた罹患同胞対法による全ゲノム解析により全ゲノム上にマップされた9箇所の染色体領域(1p36-p32, 2q34, 3q26-q28, 6p23, 7p22-p21, 9p, 11p13-p12, 15q13-q21, 20q12-q13)に位置していないかについても検討を行う。特にこれまで感受性遺伝子そのものの同定に至っていない6か所の染色性領域(2q34, 6p23, 7p22-p21, 9p, 11p13-p12, 15q13-q21)について、ヒト脂肪組織の発現解析で得られた情報を利用して候補遺伝子を絞り込み、SNP(single nucleotide polymorphism)を利用した患者対照相関解析によって2型糖尿病・メタボリックシンドローム発症に關与する遺伝子を抽出する。

4. 研究成果

上記3によって収集されたヒト組織から RNeasy Kit(QIAGEN社)を利用してRNAを抽出し、100例について Affymetrics Human Genome U133 Plus 2 (54675 probe)による発現プロファイリングを行った。これまでに男性15名、女性79名から脂肪組織が得られ、それぞれ平均BMIは 24.7 ± 5.78 、 21.8 ± 2.93 、平均のHOMAは $1.1.7 \pm 0.58$ 、 1.33 ± 2.29 であった。これらの脂肪組織におけるレプチン遺伝子発現は年齢・性別で調整した後にBMIとは正の相関を($p = 0.021$)、アディポネクチン遺伝子発現($p = 0.047$)とは負の相関を認めた。BMI22以上の過体重群とBMI22未満の正常群とで、2倍以上発現が上昇しているものは75遺伝子、発現が低下しているものは100遺伝子認められた。またHOMAのインスリン抵抗性指標が1.5以上のインスリン抵抗性群と未満のインスリン感受性群で2倍以上発現が変化しているものは33、発現が低下しているものは28遺伝子であった。これらの遺伝子の中で上述した6か所の染色性領域に位置する遺伝子は9pに位置するFLJ35740、15q13-q21に位置するPLA2遺伝子など21遺伝子が存在した。PLA2遺伝子領域のSNPについては患者対照相関解析をおこなったところ2型糖尿病との相関を認めた。また、新規2型糖尿病遺伝子として同定した遺伝子Xについて糖尿病のリスクを上昇させるアリル保持者は非保持者に比較して遺伝子発現が有意に低下($p=0.048$)することを本研究で収集した脂肪組織を利用した発現解析によって見出した。

今後は更にヒト脂肪組織の検体数を増やして検討を行い、これらの遺伝子の発現と肥満・インスリン抵抗性との相関を確認するとともに、当該遺伝子のSNPについて2型糖尿病患者と非糖尿病患者のDNAサンプルを利用した患者対照相関解析を行う。PLA2遺伝子については独立したDNAサンプルを用いて再現性を確認し、2型糖尿病感受性遺伝子としての意義を明らかにしていく。

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7件)

(査読有)Yasuda K, Miyake K, Horikawa Y, Hara K et al. Variants in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nature Genetics* 40(9):1092-7, 2008

(査読有)Unoki H, Takahashi A, Kawaguchi T, Hara K et al. SNPs in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes in East Asian and European populations. *Nature Genetics* 40(9):1098-102, 2008

(査読有)Wang G, Watanabe M, Imai Y, Hara K et al. Genetic variations of Mrf-2/ARID5B confer risk of coronary atherosclerosis in the Japanese population. *Int Heart J.* 49(3):313-27, 2008

(査読有)Miyake K, Horikawa Y, Hara K, Yasuda K et al. Association of TCF7L2 polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes in 4,087 Japanese subjects. *J Hum Genet.* 53(2):174-80, 2008

(査読有)Horikoshi M, Hara K, Ito C, Shojima N et al. Variations in the HHEX gene are associated with increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetologia.* 50(12):2461-6, 2007

(査読有)Ochi M, Osawa H, Hirota Y, Hara K et al. Frequency of the G/G genotype of resistin single nucleotide polymorphism at -420 appears to be increased in younger-onset type 2 diabetes. *Diabetes.* 56 (11):2834-8, 2007

(査読有)Horikoshi M, Hara K, Ito C,

Nagai R et al. A genetic variation of the transcription factor 7-like 2 gene is associated with risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetologia.* 50(4):747-51, 2007

〔学会発表〕(計4件)

Horikoshi M, Hara K, Shojima N, Ito C et al. Variations in the *TCF7L2* and *HHEX* genes independently confer Type 2 Diabetes Susceptibility on Japanese Population. 68th Scientific Sessions of the American Diabetes Association. 1146 P San Francisco, USA. June, 2008

Horikoshi M, Hara K, Ito C, Shojima N, Genomic Disorders 2008 Wellcome Trust Conference Centre, Cambridge UK, March, 2008

Horikoshi M, Hara K, Ito C, Shojima N et al. Variations in the *HHEX* gene are associated with increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. First Meeting of EASD Study Group of Genetics of Diabetes (EASD-SGGD), Malaga, Spain. October, 2007.

Horikoshi M, Hara K, Ito C, Froguel P et al. A polymorphism in the *TCF7L2* is associated with the risk of type 2 diabetes in the Japanese population. 67th Scientific Sessions of the American Diabetes Association. 1146 P Chicago, USA. June, 2007

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

原 一雄(HARA KAZUO)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号:50359600

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

門脇 孝(KADOWAKI TAKASHI)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号:30185889