

平成 21 年 4 月 15 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19591055  
 研究課題名（和文） レジスチン SNP によるメタボリックシンドロームオーダーメイド医療の体系的確立  
 研究課題名（英文） Application of Resistin SNP to Order-made Medicine of Metabolic Syndrome  
 研究代表者  
 大澤 春彦 (OSAWA HARUHIKO)  
 愛媛大学・大学院医学系研究科・教授  
 研究者番号：90294800

## 研究成果の概要：

動脈硬化の危険因子であるメタボリックシンドロームの成因に、インスリン抵抗性がある。本研究は、インスリン抵抗性原因遺伝子レジスチンを応用したメタボリックシンドロームのオーダーメイド医療の確立を目的とする。そこで、血中レジスチンとメタボリックシンドロームとの関連を解析した。その結果、2 型糖尿病において、血中レジスチンは、メタボリックシンドローム因子、すなわち、肥満、低 HDL、高中性脂肪、高血圧を有すると高く、これらの因子の集積及び動脈硬化と正に関連した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：レジスチン、メタボリックシンドローム、SNP、インスリン抵抗性、2 型糖尿病

## 1. 研究開始当初の背景

近年、動脈硬化の危険因子としてメタボリックシンドロームが注目されている。予備群を加えると 40 歳以上の男性の約半数が該当し、その予防・診断体系の確立が急務である。メタボリックシンドロームは糖代謝異常、脂質代謝異常、肥満、高血圧などの集積を指す。これらに共通の成因として、

インスリン抵抗性が考えられている。我々は、血中レジスチンが一塩基多型 (SNP)-420 の遺伝子型と強く関連し、C/C<C/G<G/G 型の順に高くなることを報告した。

日本人では、ミレニアムプロジェクト以降、2 型糖尿病の全ゲノム関連解析が進行中である。しかし、実用化されたインスリン抵抗性

あるいはメタボリックシンドロームの感受性 DNA マーカーはない。これまでに、インスリン抵抗性候補遺伝子において、SNP 及びその *in vitro* での機能と臨床的表現型である血中濃度が一致したのは、我々が同定したレジスチン SNP-420 のみである。

レジスチンは、インスリン抵抗性を惹起するサイトカインである。我々は、レジスチンのプロモーター SNP-420 の C から G への変化が、転写因子 Sp1/3 の特異的結合を介して 2 型糖尿病感受性を高めることを見出した (**Am J Hum Genet** 75: 678, 2004)。これは、2 型糖尿病の原因遺伝子から発症までの過程を、遺伝学的かつ機能的に証明した世界で初めての知見である。その後、SNP-420 はレジスチンの血中濃度及び単球における mRNA 量を規定することも証明した (**BBRC** 335: 596, 2005)。さらに、レジスチンは、ヒトでは主に単球に発現し、炎症や動脈硬化における役割が示唆されている。すなわち、メタボリックシンドロームの原因遺伝子である可能性が高い。

## 2. 研究の目的

本研究は、「インスリン抵抗性原因遺伝子”レジスチン SNP-420”を用いて、メタボリックシンドロームのオーダーメイド医療を確立することを目的とする。まず、一般住民検診受診者を対象として、SNP-420 遺伝子型とメタボリックシンドロームの各因子、血中サイトカインとの関連を解析する。次に、2 型糖尿病患者を SNP-420 遺伝子型により分類し、メタボリックシンドローム因子との関連を解析する。同時に候補薬剤の効果の違いを検討する。最後に、ヒトの単離単球、および培養細胞系を用いて、各薬剤の効果を SNP-420 との相互作用も含めて *in vitro* で解析する。こうして、レジスチン SNP-420 に基づく、メタボリックシンドロームの発症予防法及びオーダーメイド医療を確立する。

## 3. 研究の方法

### 1) レジスチン SNP-420 とメタボリックシンドロームとの関連解析

既に、住民健診約 2500 名の DNA 及び血漿サンプルと臨床データを収集している。こ

のサンプルを用いて、インスリン抵抗性の指標である HOMA-IR、炎症の指標である CRP、血中サイトカイン濃度を順次測定し、データベース化する。SNP については、Taqman 法や PCR 直接シーケンス法によりタイピングする。SNP-420 についてこれらの因子との関連を多変量解析し、メタボリックシンドローム原因遺伝子としての意義を解明する。必要に応じて SNP-420 の周辺の SNP もタイピングし、メタボリックシンドロームの各因子との関連解析に加える。

また、人間ドックの経口ブドウ糖負荷試験 (OGTT) 対象者の DNA サンプルと血液サンプルを収集する。データベースを構築し、OGTT の正常型、境界型、糖尿病型ごとに SNP-420 の頻度や血中濃度、可能例では単球 mRNA との関連を解析する。

### 2) レジスチン SNP-420 と薬剤の相互作用の *in vivo* 解析

対象者を SNP-420 遺伝子型で分類した上で、候補薬剤の有効性について、2 型糖尿病、高血圧、高脂血症、肥満症例で解析する。体重、血糖、血中インスリン、中性脂肪、遊離脂肪酸 (FFA) などを 3 か月間検査し効果を判定する。また、血中レジスチン、アディポネクチンなどのアディポサイトカイン、高感度 CRP などをあわせて測定する。

多数例の臨床情報や SNP 情報を体系的に解析するために、データベースを構築する。これを用いて、多変量解析により薬剤感受性を規定する因子を明らかにする。各因子の薬剤感受性に対する影響の大きさを、遺伝子型、年齢、性別、BMI、血糖コントロール、罹病期間などを調整して詳細に検討する。こうして、メタボリックシンドロームの各因子ごとに SNP-420 遺伝子型による薬剤効果の違いを解析する。

### 3) レジスチン SNP-420 と薬剤の相互作用の in vitro 解析

既に確立したショウジョウバエ SL2 細胞の系や、THP-1 ヒト単球細胞などの哺乳類細胞に、ヒトレジスチンプロモーター活性を反映するルシフェラーゼレポーターをトランスフェクションにより導入する。変異型と正常型のプロモーターに対して、各種薬剤を添加し、変異型と正常型プロモーター、薬剤の添加と非添加の 4 通りについてルシフェラーゼ活性を比較する。

THP-1 ヒト単球細胞あるいはヒト単離単球に、各種薬剤を添加し、内因性の遺伝子発現の違いを解析する。RNA を抽出し、レジスチン及びその他の標的遺伝子の mRNA に対する効果を RT-PCR により検討する。ヒト単離単球では、各遺伝子型による違いも同時に検討する。さらに、マイクロアレイにより、SNP-420 特異的に薬剤の効果が異なる新たな標的遺伝子を同定する。

## 4. 研究成果

2 型糖尿病において、メタボリックシンドローム因子、すなわち、肥満、低 HDL、高中性脂肪、高血圧と、血中レジスチン濃度との関係を検討した。血中レジスチンは、肥満、低 HDL、高中性脂肪、高血圧を有する 2 型糖尿病において高かった。さらに、血中レジスチンは、メタボリックシンドロームの最終的な合併症である動脈硬化性疾患を有する 2 型糖尿病で高かった。さらに、2 型糖尿病において、血中レジスチンは頸動脈内膜中膜肥厚 (IMT) と正に関連した。また、高血圧と 2 型糖尿病の有無で解析すると、血中レジスチンは両者を同時に有する場合、2 型糖尿病のみ、高血圧のみの順に高かった。以上のことから、2 型糖尿病において、血中レジスチンは、メ

タボリックシンドローム因子の集積と正に関連した。

一方、SNP-420 の遺伝子型とメタボリックシンドローム因子との直接の有意な関連は認めなかった。各遺伝子型に分類するとサンプル数が少なくなるため検出力が低下する可能性と SNP-420 以外の遺伝因子や環境因子が影響する可能性が考えられた。

また、薬剤によるレジスチン遺伝子発現の変化を THP-1 ヒト単球細胞で検討したが、これまでのところ、有意な変化は認めなかった。種々の細胞を用いるなど、今後アッセイ系を検討する必要があると考えられた。

ヒトにおける薬剤効果については、インスリン抵抗性改善薬のチアゾリジン、降圧薬のアングiotenシン受容体拮抗薬、抗高脂血症薬のスタチンが血中レジスチンを低下させることが再現性は十分でないが報告されている。我々も一部の薬剤の効果を確認した。今後、対象者数を増やして遺伝子型による違いを含めてさらに解析を進めたいと考えている。

我々は、血中レジスチンは、SNP-420 の遺伝子型と強く関連し、C/C<C/G<G/G 型の順に高くなることを再現性良く認めている (Am J Hum Genet 75: 678, 2004, BBRC 335: 596, 2005, Diabetes Care 30: 1501-1506, 2007)。さらに、今回、血中レジスチンはメタボリックシンドロームの因子の集積と正に関連することが明らかになった。したがって、SNP-420 と血中レジスチンを組み合わせることにより、個人個人にあったメタボリックシンドロームの発症予知や治療法選択における有効な方法が確立できる可能性がある。今後、こうしたオーダーメイド医療の実現に向けて、さらに研究を進展させていきたいと考えている。

## 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 1 件)

1. 大澤春彦、牧野英一、レジスチン-ヒトのインスリン抵抗性における意義-臨床化学 37: 258-263, 2008. 査読無し。

[学会発表] (計 2 件)

1. 大澤春彦、西田 亙、高田康徳、牧野英一他. 2 型糖尿病において血中レジスチンはメタボリックシンドローム因子数と正に関連する. 第 51 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2008 年 5 月 22-24 日, 東京

2. 大澤春彦、牧野英一他. ヒトのインスリン抵抗性におけるレジスチンの意義. 第 42 回糖尿病学の進歩. 2008 年 2 月 15-16 日, 高松.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大澤 春彦 (OSAWA HARUHIKO)  
愛媛大学・大学院医学系研究科教授  
研究者番号: 90294800

牧野 英一 (MAKINO EIICHI) (H19 代表者)  
愛媛大学・大学院医学系研究科教授  
研究者番号: 50009578

### (2) 研究分担者

西田 亙 (NISHIDA WATARU)  
愛媛大学・大学院医学系研究科・講師  
研究者番号: 80271089  
高田 康徳 (TAKATA YASUNORI)  
愛媛大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号: 20432792

### (3) 連携研究者