

令和 5 年 6 月 17 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07868

研究課題名(和文) 2型糖尿病原因遺伝子レジスチンを標的とした遺伝子環境因子相互作用メカニズムの解明

研究課題名(英文) Gene-environment interaction mechanisms targeting the type 2 diabetes susceptibility gene resistin

研究代表者

川村 良一 (Kawamura, Ryoichi)

愛媛大学・医学系研究科・講師

研究者番号：90533092

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：2型糖尿病感受性遺伝子レジスチンの遺伝子・環境因子相互作用の解析を行った。地域一般住民約2000名の遺伝疫学研究において、血中レジスチン濃度は、レジスチン遺伝子転写調節領域に存在するSNP-420とSNP-358によって非常に強く規定されていた。この2つのSNPの同一染色体上の組合せ(ハプロタイプ)がG-A homoの場合に血中レジスチンは最も高く、C-G homoの場合に最も低かった。環境因子の検討では、血中レジスチンはn-3多価不飽和脂肪酸の摂取量及び血中濃度と負に、現在の喫煙の有無及び喫煙本数と正に関連した。これらの関係は、G-Aハプロタイプを有する場合に最も強く、交互作用を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全ゲノム関連解析等により、2型糖尿病の原因遺伝子は多数報告されてきたが、インスリン分泌に関連するものがほとんどであり、そのメカニズムもほとんど分かっていない。2型糖尿病発症予防のためには、先行するインスリン抵抗性への介入が鍵である。レジスチンは数少ないインスリン抵抗性関連遺伝子であり、プロモーターSNPにより血中濃度が強く規定されている。レジスチンSNPハプロタイプを標的とし、相互作用を認める環境因子を同定、介入することで、2型糖尿病及びインスリン抵抗性疾患の高精度予防戦略を確立することを目指している。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the gene-environment interaction of resistin as susceptibility gene for type 2 diabetes. In a genetic epidemiological study of approximately 2000 general Japanese subjects, serum resistin was strongly determined by SNP-420 and SNP-358 in the promoter region of human resistin gene. Serum resistin was highest with SNP-420 G/SNP-358 A (G-A) haplotype homozygotes and lowest with C-G haplotype homozygotes. Serum resistin was negatively associated with the intake and serum concentration of n-3 polyunsaturated fatty acids and positively associated with current smoking and number of cigarettes smoked/day. These associations were strongest with G-A haplotype and interaction was observed.

研究分野：糖尿病

キーワード：インスリン抵抗性 遺伝子 環境因子 レジスチン 遺伝疫学 SNP ハプロタイプ 糖尿病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでに、全ゲノム関連解析(GWAS)により、多数の2型糖尿病感受性一塩基多型(SNP)が同定された。しかし、いずれもリスクへの効果は1.1~1.4倍と弱く、これら全てを合わせても、2型糖尿病の遺伝素因の20%程度しか説明できない。ほとんどは原因遺伝子の同定に至らず、機能が不明であるため、予防や治療の標的になり得ない。また、進行した糖尿病を対象としているため、ほとんどがインスリン分泌低下に関係するSNPである。2型糖尿病発症過程のより早い段階で重要である、インスリン抵抗性関連遺伝子はほとんど見つかっていない。また、遺伝子・環境因子相互作用も分かっていない。

数少ない例外としてレジスチンがある。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。申請者らの教室では、世界に先駆けて、レジスチン遺伝子転写調節領域の一塩基多型(SNP)-420が、2型糖尿病の原因遺伝子であることを見出した。SNP-420 G/G 遺伝子型を有すると、C/C と比べ、2型糖尿病のリスクは約1.8倍になった(*Am J Hum Genet* 75: 678, 2004)。その機序として、SNP-420がGの場合に転写因子Sp1/3が特異的にDNAエレメントに結合し、転写活性及び血中濃度を高めた。申請者らは、SNP-420 Gが血中濃度を高めるためには、近傍のSNP-358 Aが必要であることを報告した(*Diabetologia* 53: 795, 2010. *PLoS ONE* 5: e9718, 2010. *Physiol Genomics* 48: 874, 2016)。また、一般住民において、血中レジスチンはインスリン抵抗性と正に関連した。しかし、これらのSNPと関連する環境因子、及びそのメカニズムは不明である。

2. 研究の目的

本研究は、血中レジスチンが、レジスチン遺伝子プロモーター領域のSNP-420、SNP-358によって非常に強く規定されているという独自の知見に基づく。統計学的には、個人間における血中レジスチンの変動の約50%がSNP-420とSNP-358によって規定されていた。GWASで同定された2型糖尿病感受性SNPが、疾患感受性に寄与する割合はせいぜい1%にすぎないことを考えると、これは例外的に強い。すなわち、レジスチン遺伝子発現系は、SNP・環境因子相互作用、及びそのメカニズムの解明に絶好のモデルと考えられる。

本研究では、インスリン抵抗性関連遺伝子レジスチンの一塩基多型(SNP)を標的とし、環境因子がどのようにSNPと相互作用し、2型糖尿病を進展させるのか、そのメカニズムを解明することを目的とした。

インスリン分泌低下が進行した集団では、インスリン抵抗性の研究は困難である。本申請の一般住民では、75gブドウ糖負荷試験で72%が正常型と診断されている。2型糖尿病進展のごく早い段階でのインスリン抵抗性の意義を解明できると考えた。

3. 研究の方法

本研究では、インスリン抵抗性関連遺伝子レジスチンの一塩基多型(SNP)を標的とする。環境因子がどのようにSNPと相互作用し、2型糖尿病を進展させるのか、そのメカニズムを解明することを目的とする。

一般住民において、レジスチンSNP-420及びSNP-358の遺伝子型、あるいはそれらの組合せ(ハプロタイプ)と相互作用する環境因子相互作用を同定する。本集団では、75gブドウ糖負荷試験、食品摂取頻度調査(FFQ)による栄養摂取量、加速度計測機能付歩数計による1週間の身体活動量、睡眠・自律機能検査、歯周病検査、サルコペニア・認知機能評価、頸動脈エコー等による動脈硬化検査など、詳細な検査を行っている。

遺伝子発現は、環境因子によるDNAメチル化の影響を受ける。SNP-420 Cのメチル化率と関連する環境因子を同定する。

本集団を前向きに追跡し、で同定した相互作用が2型糖尿病発症に及ぼす影響を解明する。5年後、10年後に75gブドウ糖負荷試験を再検し、インスリン抵抗性の悪化や耐糖能異常悪化、インスリン抵抗性関連疾患発症との関連についても検討する。

THP-1細胞、及びゲノム編集培養細胞(G-Aハプロタイプ vs. C-Gハプロタイプ) *in vitro*において、相互作用のメカニズムを解明する。環境因子として、EPA、DHAなどの脂肪酸、AICAR、ニコチン等を用いて、mRNA、蛋白量の違いを比較する。

4. 研究成果

本集団の地域一般住民約 2000 名の遺伝疫学研究において、別コホートと同様に、血中レジスチン濃度は、レジスチン遺伝子転写調節領域に存在する SNP-420 と SNP-358 によって非常に強く規定されていることを確認した。この 2 つの SNP の同一染色体上の組合せ (ハプロタイプ) SNP-420 G/SNP-358 A (G-A ハプロタイプ) を homo で有する場合に血中レジスチンは最も高かった。一方、SNP-420 C/SNP-358 G (C-G ハプロタイプ) を homo で有する場合に、血中レジスチンは最も低かった。

環境因子の検討では、血中レジスチンは n-3 多価不飽和脂肪酸の摂取量及び血中濃度と負に関連した。また、血中レジスチンは運動量や運動時間と負に関連した。一方、血中レジスチンは現在の喫煙の有無及び喫煙本数と正に関連した。さらに白血球数が多いほど血中レジスチンは高かった。

これらの環境因子と血中レジスチンの関係は、G-A ハプロタイプを有する場合に最も強く、有意な交互作用を認めた。複数の環境因子を統合した解析を行った。5 年後の前向き研究においても、環境因子と血中レジスチンの 5 年間の変化は、G-A ハプロタイプを有する場合に最も強かった。

これらの SNP 周辺のシトシンメチル化率を定量化した。環境因子との関連について解析を行った。

レジスチンのヒトの主たる発現部位は白血球であり、THP-1 ヒト単球培養細胞において、メカニズムの解析を行っている。ゲノム編集培養細胞作製についての基礎的検討を行った。

今後もこれらの研究を継続し、インスリン抵抗性関連遺伝子の SNP を標的として環境因子に介入するという、2 型糖尿病の高精度予防戦略を確立する。SNP・環境因子相互作用のメカニズムの解明は、糖尿病治療の新たな分子標的となり得ると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Kawamura R, Tabara Y, Takata Y, Maruyama K, Takakado M, Hadate T, Matsushita Y, Sano M, Makino H, Saito I, Kanatsuka A, and Osawa H. | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 Association of a SNP in the IAPP gene and hyperglycemia on β -cell dysfunction in type 2 diabetes: the Toon Genome Study. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Diabetol Int | 6. 最初と最後の頁 201-208 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s13340-021-00523-4. eCollection 2022 Jan. | 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 - |

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 川村良一、田原康玄、高田康徳、丸山広達、高門美沙季、池田陽介、羽立登志美、斉藤 功、大澤春彦 |
| 2. 発表標題 SNP-420/-358 G-Aハプロタイプホモにおいて5年間の身体活動の増加は血中レジスチン低下と最も強く関連する |
| 3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 川村良一、田原康玄、高田康徳、丸山広達、高門美沙季、池田陽介、羽立登志美、斉藤 功、大澤春彦 |
| 2. 発表標題 血中レジスチンの変化はSNPハプロタイプと環境因子スコアにより規定される |
| 3. 学会等名 日本糖尿病学会中国四国地方会第59回総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 川村良一、田原康玄、高田康徳、丸山広達、高門美沙季、池田陽介、羽立登志美、斉藤 功、大澤春彦 |
| 2. 発表標題 血中レジスチンはプロモーターSNPと環境因子・白血球数の相互作用によって規定される【東温ゲノムスタディ】 |
| 3. 学会等名 第6回日本糖尿病・生活習慣病ヒューマンデータ学会年次学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 川村良一、高門美沙季、高田康徳、大澤春彦 |
| 2. 発表標題 血中レジスチンはSNP-420/SNP-358ハプロタイプと環境因子スコアにより規定される【東温ゲノムスタディ】 |
| 3. 学会等名 第68回日本臨床検査医学会学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 川村良一、田原康玄、高田康徳、丸山広達、高門美沙季、池田陽介、羽立登志美、西田互、大沼裕、谷川武、斉藤功、大澤春彦 |
| 2. 発表標題 血中レジスチンの5年間の変化はSNP-420と環境因子スコアの相互作用により規定される【東温ゲノムスタディ】 |
| 3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 川村良一、田原康玄、高田康徳、丸山広達、高門美沙季、池田陽介、羽立登志美、斉藤功、大澤春彦 |
| 2. 発表標題 レジスチンSNP-420/SNP-358ハプロタイプと白血球数は相互に血中レジスチン高値と関連する |
| 3. 学会等名 日本糖尿病学会中国四国地方会第58回総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 川村良一、田原康玄、高田康徳、丸山広達、高門美沙季、池田陽介、羽立登志美、斎藤功、大澤春彦 |
| 2. 発表標題 レジスチンSNPハプロタイプと腹部肥満はCRP高値と関連する【東温ゲノムスタディ】 |
| 3. 学会等名 日本糖尿病学会中国四国地方会第60回総会 |
| 4. 発表年 2022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 | 高田 康德 (Takata Yasunori) (20432792) | 愛媛大学・医学系研究科・准教授 (16301) | |
| 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) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|