

機関番号：20101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20791154

研究課題名（和文） 遺伝子多型は多嚢胞性卵巣症候群の疾患感受性、薬剤応答性を規定する

研究課題名（英文） The role of genetic polymorphisms in polycystic ovary syndrome

研究代表者

馬場 剛 (BABA TSUYOSHI)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：60404654

研究成果の概要（和文）：インスリン抵抗性関連遺伝子の一塩基多型(SNP)のうち、IRS-1 Gly972Arg、RETN -420C/G が PCOS の疾患感受性遺伝子であることが判明した。一方、ENPP 1 Lys121Gln、apM1 -11377 C/G の遺伝子型頻度に関しては、PCOS 症例とコントロール症例において、有意差は認められなかった。PCOS 症例において、RETN homogeneous variant genotype をもつものでは有意に BMI 高値、空腹時インスリン高値、Adiponectin 低値であったが、IRS-1 genotype による差異は認められなかった。

研究成果の概要（英文）：We revealed that the SNPs IRS-1 Gly972Arg and RETN -420 C/G are predisposing factors in PCOS. PCOS patients who have RETN -420 homozygous variant genotype showed significantly higher BMI, higher fasting serum insulin levels, and lower serum adiponectin levels.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：多嚢胞性卵巣症候群、遺伝子多型、インスリン抵抗性、アディポサイトカイン、アンドロゲン

1. 研究開始当初の背景

多嚢胞性卵巣症候群は生殖年齢女性の5-10%程度に存在するとされる、比較的頻度の高い疾患である。その主要な兆候としては、排卵障害、高アンドロゲン血症もしくは高アンドロゲン状態、卵巣の多嚢胞性形態である。排卵障害による不妊に悩む症例も多く、排卵誘発剤による治療を必要とする例が相当数いるが、多嚢胞性卵巣症候群による不妊症例の問題点として、排卵誘発剤への抵抗性と過剰反応という相反する現象があげられる。もともと多嚢胞性卵巣症候群ではアンドロゲンによる小卵胞のリクルート増加と卵胞発育の障害をもつため、小卵胞数が過剰な状態となって卵巣の多嚢胞性形態をつくりあげている。ところが卵胞発育障害を克服するため排卵誘発剤を使用すると、卵巣内にたくさんみられる小卵胞がすべて発育を再開することにより、結果的に発育卵胞数が過剰になってしまう。その結果、卵巣過剰刺激症候群となり胸腹水貯留や静脈血栓症のリスクが発生することとなる。その他にも高次多胎妊娠のリスクを伴うなど、排卵誘発剤のコントロールに難渋する疾患である。つまり、治療のニーズは大きい、治療による医原性疾患を惹起する可能性がある疾患といえる。

排卵障害により月経異常や不妊をきたすこと以外にも、肥満の合併が多いこと、子宮体癌のリスク因子となること、高アンドロゲンによる多毛や座瘡、禿頭などの問題をももたらす可能性のある疾患である。また、近年インスリン抵抗性と関連が指摘されており、2型糖尿病や心血管系疾患と関連することや、インスリン抵抗性改善薬により病状が改善することもよく知られた現象である。

多嚢胞性卵巣症候群の原因はいまだ十分に解明されていないが、家族集積性が認められることから、遺伝的影響がその発症に関与すると考えられている。遺伝的素質を規定するものとして遺伝子多型が知られているが、多嚢胞性卵巣症候群においてもインスリンシグナル伝達に関与する遺伝子の多型、インスリン抵抗性に関連のあるアディポサイトカインの遺伝子多型や、アンドロゲン産生や代謝に関与するステロイド代謝酵素遺伝子の多型が報告されつつある。遺伝子多型の頻度は人種間で差がみられることが考えられ、欧米人を対象とした多嚢胞性卵巣症候群と遺伝子多型との関連を示すデータはあるものの日本人でのデータがほとんどない。また、人種間で肥満の合併頻度や多毛の頻度などに相違があり、病因も多岐にわたることが推測されることから、欧米人と日本人では病因が若干異なる可能性も考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、排卵障害、不妊症例に比較的多いとされる多嚢胞性卵巣症候群の遺伝的感受性を明らかにし、その遺伝的背景と薬物療法の反応性につき検討することにある。多嚢胞性卵巣症候群の治療にあたり、日本人における病因を解明することが必要と考えており、遺伝子多型の検討がその一端を担うものとする。遺伝子多型は、多嚢胞性卵巣症候群の治療薬の一つであるインスリン抵抗性改善薬の効果にも影響するとの報告があり (Ertunc D et al, Human Reprod 2005)、オーダーメイドの治療法選択という観点からも日本人での遺伝子多型の関連を明らかにする必要があると考える。

3. 研究の方法

札幌医科大学附属病院婦人科を受診された症例のうち、同意の得られた多嚢胞性卵巣症候群の症例と健常コントロール例（その他の婦人科疾患や検診等で受診した症例）を対象とした。また、コントロール例としては、北海道バースコホートスタディーに登録された症例のうち不妊症治療歴のない症例も対象とした。

対象の末梢血を採取しゲノムDNAを抽出した。個々のDNAを鋳型とし、TaqMan PCR法にて候補となる遺伝子の遺伝子型を決定した。多嚢胞性卵巣症候群のグループと、コントロールのグループとで、各々遺伝子型頻度を求め、両群に有意差が存在するかどうかを検討した。検討した遺伝子多型は、インスリン抵抗性に関与する以下の一塩基多型(SNP)とした。(SNPs: Insulin Receptor Substrate-1 (IRS-1) Gly972Arg, Ectonucleotide pyrophosphatase / phosphodiesterase 1 (ENPP1) Lys121Gln, Resistin (RETN) -420 C/G, Adiponectin (apM1) -11377 C/G)。

有意差が得られた遺伝子に関しては罹患率に対しどの程度寄与するのかを統計学的に検討した。さらに、多嚢胞性卵巣症候群においては、LH、FSH、プロラクチンといった下垂体ホルモンや、テストステロン、遊離テストステロン、アンドロステンジオン、DHEASといった男性ホルモン、空腹時血糖、空腹時インスリン、アディポネクチンといったインスリン抵抗性の指標に関して測定し、遺伝子型により測定値への影響がみられるかについても検討した。

IRS-1はインスリン受容体からのシグナルを下流に伝達する分子であるが、972番目のアミノ酸がグリシンからアルギニンに置換されることで、インスリン感受性が低下することが知られている。ENPP1は骨格筋や脂肪細胞など、糖代謝やインスリン感受性を規定するのに重要なインスリン標的細胞に発

現しているが、121番目のアミノ酸がリジンからグルタミンに変異することで、インスリン感受性が低下することが知られている。Resistinは脂肪細胞の分化とともに誘導・分泌され、肥満により血中濃度が上昇する。動物実験ではResistinの投与により耐糖能やインスリン作用が障害されることが証明されており、インスリン抵抗性惹起物質として知られている。転写開始点より420塩基上流の部位がグアニン (G) /グアニン (G) のホモ遺伝子型ではレジスチン転写促進による濃度上昇が指摘されている。アディポネクチンは脂肪細胞由来のアディポサイトカインで、インスリン感受性因子であるが、抗動脈硬化作用、抗炎症作用因子としても注目されている。転写開始点より11377塩基上流の部位がシトシン (C) からグアニン (G) に置換されると、アディポネクチンが低値になることが知られている。

4. 研究成果

インスリン抵抗性関連遺伝子のうち、インスリンシグナル伝達に関連するIRS-1とENPP1について検討したところ、IRS-1に関してはPCOS症例で有意にvariant allele陽性例が多いことが判明した(10.6% vs. 4.8%, OR:3.31, 95% CI:1.49-7.35)が、ENPP1では有意差がみられなかった(Table I)。IRS-1、ENPP1の遺伝子型とBMI、空腹時血糖(FBS)、空腹時インスリン(IRI)、HOMA-IR (=FBS × IRI/405)、Adiponectin、Total-testosterone、DHEAS、Androstenedioneの値について検討したが、有意差はみられなかった(Table II, III)

Table I. Distribution of *IRS-1* and *ENPP1* genotypes among 123 cases with PCOS and 380 controls

	PCOS		Controls		OR ^a (95% CI)
	n	%	n	%	
<i>IRS-1</i>					
Gly/Gly	110	89.4	362	95.3	—
Gly/Arg	12	9.8	17	4.5	3.31 (1.49-7.35)
Arg/Arg	1	0.8	1	0.3	
<i>ENPP1</i>					
Lys/Lys	98	79.7	318	83.7	—
Lys/Gln	24	19.5	60	15.8	1.46 (0.84-2.53)
Gln/Gln	1	0.8	2	0.5	

^aAge adjusted logistic regression analysis. *P* trend, 0.029(*IRS-1*); 0.337(*ENPP1*)
OR:odds ratio; CI:confidence interval.

Table II. Anthropometric and metabolic characteristics of PCOS women according to the *IRS-1* genotypes.

	Gly/Gly	Gly/Arg or Arg/Arg	<i>p</i>
Age	28.0 (24.0, 32.0)	30.0 (24.8, 33.3)	0.68
BMI	21.4 (19.1, 26.3)	22.2 (21.0, 26.4)	0.33
FPG	84.0 (80.0, 91.0)	83.0 (80.8, 91.3)	0.93
IRI	7.3 (5.4, 10.8)	5.9 (4.8, 9.1)	0.44
HOMA-IR	1.45 (0.87, 2.22)	1.34 (0.99, 2.02)	0.85
Adiponectin	8.5 (6.6, 10.4)	9.6 (8.3, 12.2)	0.33
Testosterone	0.52 (0.37, 0.78)	0.53 (0.37, 0.68)	0.74
Androstenedione	2.5 (2.0, 3.3)	2.5 (1.7, 3.3)	0.63
DHEAS	1676 (1210, 2310)	1470 (1140, 2175)	0.48

Data are expressed as median (25th and 75th percentiles).
Statistical analyses were performed using Mann-Whitney U test.
No statistically significant differences were observed.

Table III. Anthropometric and metabolic characteristics of PCOS women according to the *ENPP1* genotypes.

	Lys/Lys	Lys/Gln or Gln/Gln	<i>p</i>
Age	27.5 (24.0, 32.0)	30.0 (25.5, 32.0)	0.64
BMI	21.7 (19.2, 26.5)	21.2 (20.0, 25.8)	0.76
FPG	84.0 (80.0, 92.0)	84.0 (79.5, 87.5)	0.46
IRI	7.1 (5.0, 10.7)	7.7 (6.0, 12.0)	0.52
HOMA-IR	1.38 (0.84, 2.16)	1.51 (1.30, 2.46)	0.28
Adiponectin	8.4 (6.5, 10.5)	8.9 (7.3, 10.5)	0.56
Testosterone	0.52 (0.36, 0.73)	0.58 (0.40, 0.84)	0.41
Androstenedione	2.4 (1.9, 3.3)	2.7 (2.0, 3.4)	0.41
DHEAS	1630 (1115, 2265)	1710 (1493, 2700)	0.15

Data are expressed as median (25th and 75th percentiles).
Statistical analyses were performed using Mann-Whitney U test.
No statistically significant differences were observed.

アディポサイトカインの遺伝子であるapM1とRETNについて検討したところ、RETNのhomozygous variant genotypeがPCOS症例において有意に多いことが判明した(15.4% vs. 8.4%, OR:2.03, 95% CI:1.05-3.92)が、apM1の遺伝子型頻度に関しては、PCOS症例とコントロール症例において、有意差は認められなかった(Table IV)。

RETNやapM1の遺伝子型とBMI、FBS、IRI、HOMA-IR、Adiponectin、Total-testosterone、DHEAS、Androstenedioneの値について検討したところ、RETN homogeneous variant genotypeにおいて有意にBMI高値、IRI高値、HOMA-IR高値、Adiponectin低値であったが、apM1の遺伝子型による差異は認められなかった(Table V, VI)。

Table IV. Distribution of *RETN* and *ADIPOQ* genotypes among 117 cases with PCOS and 380 controls

	PCOS		Controls		OR ^a (95% CI)
	n	%	n	%	
<i>RETN</i> (-420)					
C/C	48	41.0	151	39.7	2.03 (1.05-3.92)
C/G	51	43.6	197	51.8	
G/G	18	15.4	32	8.4	
<i>ADIPOQ</i> (-11377)					
C/C	69	59.0	216	56.8	0.92 (0.59-1.45)
C/G	41	35.0	147	38.7	
G/G	7	6.0	17	4.5	

^aAge adjusted logistic regression analysis.
P trend, 0.035(*RETN*); 0.128(*ADIPOQ*)
OR:odds ratio; CI:confidence interval.

Table V. Anthropometric and metabolic characteristics of PCOS women according to the *RETN* genotypes.

	-420 C/C or C/G	-420 G/G	P
Age	29.0 (24.0, 33.0)	27.0 (23.5, 31.0)	0.313
BMI	21.4 (19.1, 26.3)	22.2 (21.0, 26.4)	0.022
FPG	83.5 (80.0, 90.0)	89.0 (78.0, 96.0)	0.310
IRI	6.8 (4.9, 9.9)	8.7 (6.7, 16.3)	0.047
HOMA-IR	1.36 (0.84, 1.90)	1.67 (1.39, 3.06)	0.044
Adiponectin	9.0 (6.9, 10.8)	6.8 (4.5, 9.0)	0.019
Testosterone	0.51 (0.39, 0.75)	0.52 (0.34, 0.99)	0.904
Androstenedione	2.5 (2.0, 3.3)	2.3 (1.7, 3.0)	0.340
DHEAS	1660 (1128, 2263)	1680 (1363, 2303)	0.554

Data are expressed as median (25th and 75th percentiles).
Statistical analyses were performed using Mann-Whitney U test.
Statistically significant differences were observed with regard to the IRI, HOMA-IR, and adiponectin.

Table VI. Anthropometric and metabolic characteristics of PCOS women according to the *ADIPOQ* genotypes.

	-11377 C/C	-11377 C/G or G/G	P
Age	29.5 (26.0, 33.0)	26.5 (22.0, 31.0)	0.024
BMI	21.2 (19.3, 26.7)	22.6 (19.5, 26.2)	0.564
FPG	84.0 (80.0, 91.5)	84.0 (77.8, 91.0)	0.487
IRI	7.4 (4.5, 10.6)	7.1 (5.4, 10.8)	0.542
HOMA-IR	1.40 (0.76, 2.15)	1.49 (1.00, 2.12)	0.423
Adiponectin	8.9 (6.7, 10.5)	8.6 (6.5, 10.4)	0.631
Testosterone	0.50 (0.36, 0.88)	0.53 (0.39, 0.70)	0.930
Androstenedione	2.5 (1.9, 3.4)	2.5 (2.0, 3.1)	0.926
DHEAS	1590 (1120, 2260)	1740 (1425, 2418)	0.188

Data are expressed as median (25th and 75th percentiles).
Statistical analyses were performed using Mann-Whitney U test.
No statistically significant differences were observed except for age.

PCOS 症例におけるインスリン抵抗性改善薬の応答性と遺伝子多型の関連については、現在症例を蓄積中でまだ十分なデータが得られていない。

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 Baba T, Endo T, Sata F, Nagasawa K, Honnma H, Kitajima Y, Hayashi T, Manase K, Kanaya M, Moriwaka O, Kamiya H, Yamada H, Minakami H, Kishi R, Saito T. The contributions of resistin and adiponectin gene single nucleotide polymorphisms to the genetic risk for polycystic ovary syndrome in a Japanese population. *Gynecol Endocrinol.* 25;2009:498-503. 査読有

[学会発表] (計1件)

- ① 馬場剛. 多嚢胞性卵巣症候群の遺伝的素因 (ワークショップ「PCOSをめぐる卵胞発育機構の基礎研究」). 第28回日本受精着床学会 2010/7/28 横浜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬場 剛 (TSUYOSHI BABA)
札幌医科大学・医学部・講師
研究者番号 : 60404654