

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月22日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(c)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591124

研究課題名（和文） 相互作用解析と発現解析による2型糖尿病遺伝素因の解明

研究課題名（英文） Clarification of genetic architecture of type 2 diabetes using expression analysis

研究代表者 原 一雄 (HARA KAZUO)

東京大学・医学部附属病院・特任准教授

研究者番号：50359600

## 研究成果の概要（和文）：

皮下脂肪と内臓脂肪のペアを収集し、網羅的遺伝子発現解析を実施した。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、アディポネクチン遺伝子発現とは負の相関を認め、前年度までに得られた皮下脂肪・内臓脂肪のセットにおいても同様の傾向を認め再現性についても確認された。皮下脂肪と内臓脂肪における遺伝子発現は主成分分析によって明確に分かれることから、遺伝子発現解析によってそのサンプルが皮下脂肪か内臓脂肪であるかが判別可能であり、こちらも前年度までに得られたセットにおける結果と合致しており再現性についても確認された。皮下脂肪と内臓脂肪で発現レベルが5倍以上、 $p$ 値で $10^{-5}$ 未満と有意に異なっている遺伝子が複数認められた。内臓脂肪と皮下脂肪で遺伝子発現が異なっている遺伝子についてパスウェイ解析やGene Set Enrichment Analysis (GSEA)などによる解析を行ったところ、炎症に関わる遺伝子のセットにおいて、内臓脂肪で皮下脂肪に比して発現レベルが高いものが多く含まれているという結果を得た。更に内臓脂肪で皮下脂肪に比して発現レベルが高い遺伝子の発現レベルは、そのサンプルが由来する個体のインスリン抵抗性と関連する傾向にあった。内臓脂肪は遺伝子発現の観点から皮下脂肪とは全く異なる性格を持つことが明らかになり、内臓脂肪の蓄積がメタボリックシンドロームの病態形成に関与していることが示唆された。

## 研究成果の概要（英文）：

We aim to clarify genetic architecture by expression analyses using human tissues which are involved in pathogenesis of type 2 diabetes and metabolic syndrome. Paired tissue samples of visceral and subcutaneous adipose tissues were obtained from patients undergone gastric surgery. Expression analysis revealed leptin gene expression level was positively correlated with BMI and adiponectin gene expression level was negatively associated with BMI after adjustment for body mass index (BMI). Principal component analysis showed gene expression profile of visceral fat was clearly distinguished from that of subcutaneous fat, which allowed us to predict origin of sample from gene expression data set. We observed expression levels of multiple genes in visceral fat tissue were substantially increased by 5 fold and significantly increased ( $P < 10^{-6}$ ) compared to those in subcutaneous fat, which were enriched in genes involved in inflammatory responses. These results suggest that accumulation of visceral fat play an important role in development of metabolic syndrome and type 2 diabetes in terms of alteration in transcriptome level.

交付決定額

(金額単位：円)

|        | 直接経費      | 間接経費      | 合計        |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2009年度 | 1,900,000 | 570,000   | 2,470,000 |
| 2010年度 | 1,300,000 | 390,000   | 1,690,000 |
| 2011年度 | 500,000   | 150,000   | 650,000   |
| 年度     |           |           |           |
| 年度     |           |           |           |
| 総計     | 3,700,000 | 1,110,000 | 4,810,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、7207 代謝学

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

1. 研究開始当初の背景

日本における糖尿病の罹患者数は820万人で今後も増加すると予測されている。糖尿病・メタボリックシンドロームは大血管症のリスクを高めることで健康寿命を短縮する主要な原因となっており、糖尿病の効果的・効率的な予防法が求められている。日本人は欧米人に比べて肥満の頻度は低いにも関わらず糖尿病の頻度が同程度であることから、日本人は欧米人に比べて糖尿病になりやすい遺伝素因を持っていると推測される。従って、日本人の糖尿病遺伝素因情報に基づいた生活習慣への介入によって、効果的・効率的な糖尿病の1次予防が可能となると考えられる。最近欧米の集団を中心として複数の2型糖尿病感受性遺伝子が同定されてきたが、遺伝素因の解明のためには、2型糖尿病感受性遺伝子の多型によってどのようなメカニズムで糖尿病が発症しやすくなるかについて切り込んでいく必要がある。

2. 研究の目的

本研究はヒト組織を利用した発現解析などに

よって、2型糖尿病感受性遺伝子の多型が糖尿病の病態に深く関与しているヒト組織において、遺伝子発現に影響を及ぼしているか網羅的発現解析を行って明らかにしようとするものである。

3. 研究の方法

皮下脂肪については付属病院形成外科で脂肪吸引術〔東京大学医学部附属病院諸規定（平成6年6月1日最終改正）に基づく医療〕施行予定の患者で、本研究に対する同意を文書で得ることができた者を対象とする。脂肪吸引術によって採取された脂肪組織の一部（50ml）を本研究に利用する。術前検査時に通常の検査項目とは別に全血10mlを採取し5mlを血中アディポカイン値の測定に、5mlをゲノムDNAの抽出に利用する。内臓脂肪については付属病院大腸肛門外科または胃食道外科における消化器癌摘出術の際に、癌組織と一塊となって正常部分も摘出されるが、その正常組織に含まれる内臓脂肪を本研究に供する。その際に同時に腹壁の皮下脂肪1cm<sup>3</sup>程度も同意を得た上で採取し今回の研究に利用した。

上記によって収集された組織から、RNeasyKit(QIAGEN社)によってRNAを抽出しAffymetrix社のDNA Chipによって遺伝子発現を網羅的に解析した。内臓脂肪と皮下脂肪で遺伝子発現が異なっている遺伝子について、t 検定や Gene Set Enrichment Analysis (GSEA)などによる解析を行った。

(本研究については倫理委員会の承認をうけ、対象者の文書による同意を得て実施しており倫理面の問題は無い)

#### 4. 研究成果

本研究においてヒト皮下脂肪 300 例、内臓脂肪 200 例を収集した。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 BMI とは正の相関を、アディポネクチン遺伝子発現とは負の相関を認め、前年度までに得られた皮下脂肪・内臓脂肪のセットにおいても同様の傾向を認め再現性についても確認された。皮下脂肪と内臓脂肪における遺伝子発現は主成分分析によって明確に分かれることから、遺伝子発現解析によってそのサンプルが皮下脂肪か内臓脂肪であるかが判別可能であり、こちらも前年度までに得られたセットにおける結果と合致しており再現性について確認された。皮下脂肪と内臓脂肪で発現レベルが 5 倍以上、p 値で  $10^{-5}$  未満と有意に異なっている遺伝子が複数認められた。内臓脂肪と皮下脂肪で遺伝子発現が異なっている遺伝子についてパスウェイ解析や Gene Set Enrichment Analysis (GSEA)などによる解析を行ったところ、炎症に関わる遺伝子のセットにおいて、内臓脂肪で皮下脂肪に比して発現レベルが高いものが多く含まれているという結果を得た。更に内臓脂肪で皮下脂肪に比して発現レベルが高い遺伝子の発現レベルは、そのサンプルが由来する個体のインスリン抵抗性と関連する傾向にあった。

#### 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 4 件)

1: Kodama K, Horikoshi M, Toda K, Yamada S, Hara K, Irie J, Sirota M, Morgan AA, Chen R, Ohtsu H, Maeda S, Kadowaki T, Butte AJ. Expression-based genome-wide association study links the receptor CD44 in adipose tissue with type 2 diabetes.

*Proc Natl Acad Sci U S A*. 109(18):7049-54, 2012

2: Imamura M, Maeda S, Yamauchi T, Hara K, Yasuda K, Morizono T, Takahashi A, Horikoshi M, Nakamura M, Fujita H, Tsunoda T, Kubo M, Watada H, Maegawa H, Okada-Iwabu M, Iwabu M, Shojima N, Ohshige T, Omori S, Iwata M, Hirose H, Kaku K, Ito C, Tanaka Y, Tobe K, Kashiwagi A, Kawamori R, Kasuga M, Kamatani N; Diabetes Genetics Replication and Meta-analysis (DIAGRAM) Consortium, Nakamura Y, Kadowaki T. A single-nucleotide polymorphism in ANK1 is associated with susceptibility to type 2 diabetes in Japanese populations.

*Hum Mol Genet*. 2012 Apr 6. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22456796.

3: Cho YS, Chen CH, Hu C, Long J, Ong RT, Sim X, Takeuchi F, Wu Y, Go MJ, Yamauchi T, Chang YC, Kwak SH, Ma RC, Yamamoto K, Adair LS, Aung T, Cai Q, Chang LC, Chen YT, Gao Y, Hu FB, Kim HL, Kim S, Kim YJ, Lee JJ, Lee NR, Li Y, Liu JJ, Lu W, Nakamura J, Nakashima E, Ng DP, Tay WT, Tsai FJ, Wong TY, Yokota M, Zheng W, Zhang R,

Wang C, So WY, Ohnaka K, Ikegami H, Hara K,  
Cho YM, Cho NH, Chang TJ, Bao Y, Hedman  
ÅK, Morris AP, McCarthy MI; DIAGRAM  
Consortium; MuTHER Consortium, Takayanagi R,  
Park KS, Jia W, Chuang LM, Chan JC, Maeda S,  
Kadowaki T, Lee JY, Wu JY, Teo YY, Tai ES,  
Shu XO, Mohlke KL, Kato N, Han BG, Seielstad  
M. Meta-analysis of genome-wide association  
studies identifies eight new loci for type 2 diabetes  
in east Asians. *Nat Genet.* 44(1):67-72, 2011

(2)研究分担者  
特になし

(3)連携研究者  
特になし

4: Ogawa N, Imai Y, Takahashi Y, Nawata K,  
Hara K, Nishimura H, Kato M, Takeda N, Kohro  
T, Morita H, Taketani T, Morota T, Yamazaki T,  
Goto J, Tsuji S, Takamoto S, Nagai R, Hirata Y.  
Evaluating Japanese patients with the Marfan  
syndrome using  
high-throughput microarray-based mutational  
analysis of fibrillin-1 gene. *Am J Cardiol.*  
108(12):1801-7, 2011

[学会発表] (計 2 件)

1: Comprehensive evaluation of type 2 diabetes  
susceptibility in the Japanese population by  
genome-wide imputation analysis using the 1000  
Genomes Project data Hara K, Fujita H, Johnson  
TA, Horikoshi M, Maeda S, Tsunoda T, Kubo M,  
Nakamura Y, Kadowaki T. Oct. 12, 2011,  
12th ICHG/61th ASHG, montreal, Canada

2: Genetics of Type 2 diabetes in East Asia  
Hara K. 16th Japan-Korea Symposium on  
Diabetes Mellitus Oct 22, 2011, Tokyo

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

原 一雄 (東京大学・医学部附属病院・特任  
准教授)

研究者番号 : 50359600