

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 25 年 5 月 31 日現在

機関番号: 15101

研究種目: 基盤研究(C)

研究期間: 2010 ~ 2012

課題番号: 22591128

研究課題名(和文)小児期発症メタボリック症候群における新たな疾患感受性遺伝子の探索

 研究課題名(英文) A study for the etiology of the metabolic syndrome and obesity in childhood
focusing on genetic background

研究代表者

花木 啓一 (HANAKI KEIICHI)

鳥取大学・医学部・教授

研究者番号: 20238041

研究成果の概要 (和文):

肥満とメタボリック症候群の遺伝要因について、典型例としての単一遺伝子異常による遺伝性肥満と、頻度の多い遺伝子多型の両面からのアプローチにより、病態解析と表現型との比較を行った。アルストローム症候群については、そのインスリン抵抗性は、PPAR γ リガンドにより減弱することが示された。さらに、小児期の肥満指標と肥満関連遺伝子多型の関連、肥満指標と周産期指標との関連についての知見が得られた。

研究成果の概要 (英文):

The aim of this study was to elucidate the mechanism by which the metabolic syndrome and obesity developed, especially both in Alstroem syndrome, a hereditary obesity, and genetic polymorphisms related to obesity. Several findings were obtained focusing on the relationship between insulin action and PPAR gamma stimulation, and on the relationship between SNPs for obesity-related genes and blood chemistry.

交付決定額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2013 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野:

小児内分泌代謝学

科研費の分科・細目:

内科系臨床医学・小児科学

キーワード:

メタボリックシンドローム、小児肥満、遺伝性肥満、遺伝素因

1. 研究開始当初の背景

肥満とメタボリックシンドロームの成因には、過食だけではなく、運動不足を助長するような環境要因や、持って生まれた遺伝要因が関係していると考えられている。小児肥満の罹病年数は成人肥満のそれより短いことから、遺伝要因の関与は、成人肥満より小児肥満でより大きいものと推測される。

「遺伝素因」は、複数の遺伝子のわずかな異常(多型)の集積により発症率が高まる状態をさしている。さらに、メタボリック症候群の発症し易さには、肥満の程度が同じでも著しい個人差があることが知られているが、肥満関連遺伝子群の多様性(SNPs)がその個人差の要因のひとつであるとされている。

一方、「肥満の発症が遺伝と密接に関連している」とときには、遺伝性肥満という言葉が使われ、多くの場合は単一遺伝子の異常によって、肥満やメタボリック症候群が発症すると考えられている。メタボリック症候群の主要病態であるインスリン抵抗性の原因はインスリン受容体後情報伝達障害にあると予想されているが、その異常の分子機構は未解明である。そのなかで、小児遺伝性肥満に分類されるアルストレーム(Alström)症候群は単一遺伝子異常により発症する疾患であるが、インスリン抵抗性糖尿病とメタボリック症候群を必発することが大きな特徴であるので、この疾患はメタボリック症候群の疾患モデルに近似できる。

このように、肥満・メタボリック症候群に罹患し易さについての遺伝的背景は、頻度は高いが表現型への影響は軽度である遺伝子多型によるものと、頻度は低いが単一の遺伝子の異常により肥満・メタボリック症候群を発症しうる遺伝性肥満遺伝子によるものの2つを両極端として、その中間的性質を持つ遺伝子を含む連続したものと認識されている。

現在までに、これらの一部の遺伝的要因が明らかになってはいるが、遺伝子多型、遺伝性肥満の遺伝子異常が肥満・メタボリック症候群発症に与える影響や、これらの遺伝要因と胎生期の環境による遺伝子発現プログラミングとの関係など、解明されていない部分が多い。

2. 研究の目的

肥満とメタボリック症候群を必発する小児遺伝性肥満(Alström 症候群)について、そのインスリン作用の障害部位を解析することにより、この単一遺伝子異常がメタボリック症候群を惹起するメカニズムについての知見を得る。これによって、原発性肥満に伴うメタボリック症候群の治療と予防へのアプローチが可能になる。

これらの遺伝性肥満に関連する遺伝子群また

は頻度の多い遺伝子多型について、遺伝子型と肥満に関連した表現型との関連、出生前環境との関連について検討することにより、遺伝要因と肥満関連病態との関連、出生前環境との関連を明らかにすることができる。これによって、肥満やメタボリック症候群の高リスク群に対しての効率的介入が可能となるので、小児期のうちから、成人後の生活習慣病予防にむけて、個々人に着目した(テイラーメイド)介入を行うことが可能となる。

3. 研究の方法

(1) インスリン抵抗性を示す遺伝性肥満の病態解明

現在までに、国内外から供与された Alström 症候群患者の検体を用い、病因遺伝子 ALMS1 の変異を検索した。遺伝子変異の検索は、患者リンパ球から抽出したゲノム DNA の PCR-直接シーケンス法によって塩基配列を決定した。遺伝性肥満(Alström 症候群)における *in vivo* 解析では、今までの研究で、インスリンと IGF-1 による血糖降下作用の比較を、インスリンと IGF-1 を、短期(単回投与)と長期(2ヵ月間)の2つの様式で投与し、その血糖降下作用について比較検討したが、今回は、核内受容体の PPAR γ のリガンドであるインスリン抵抗性改善薬(pioglitazone)の長期投与を実施し、インスリン基礎値、インスリン感受性、脂質プロフィールについて検討を加えた。

一方、メタボリック症候群の主病態は、インスリン抵抗性であるが、抵抗性が高度な例では、逆に脂肪萎縮に至る。遺伝性のインスリン受容体異常症である Leprechaunism についても、インスリンと細胞内情報伝達系を共有する IGF-1 刺激の反応性についてあわせて検討した。

(2) 遺伝子多型と表現型の解析

原発性肥満 50 例(3~18 歳、男 35 例、女 15 例)について、子宮内環境の指標としての出生時体重と、肥満に関連した遺伝要因としてエネルギー消費調節に関わる β 3AR 遺伝子多型との関連を検討し、同時に、肥満とメタボリック症候群の指標との相関を比較検討した。 β 3AR 遺伝子解析は、末梢血由来 DNA を用い、W64R を pinpoint 法で解析した。遺伝子型の頻度解析にはカイ 2 乗検定を用いた。

(3) アディポサイトカイン動態解析

メタボリック症候群や肥満の罹患感受性に影響すると考えられる遺伝的またはエピジェネティック要因についての検討として、子宮内環境の指標として、出生時体重と、周産期アディポサイトカイン(leptin, adiponectin)動態について検討した。対象は、正常経過で正期産に至った母 95 例と、その母より出生した新生児 95 例(男 45 名、女 50 名)とした。母児の血液間でアディポサイトカイン値の相関を検討した。相関解析は

Spearman の検定を用いた。

4. 研究成果

(1) インスリン抵抗性を示す遺伝性肥満の病態解明

高度のインスリン抵抗性を示すAlström症候群については、前回までの研究で、静脈内インスリン投与によってもPG低下率が低値であるが、IGF-1投与により有意なPG低下が認められ、インスリンへの感受性低下とIGF-1によるPG降下作用が示されている(インスリン0.1U/kg/dose, ivによるPG低下率は16.8%, IGF-1 0.2 mg/kg/dose, scによるPG低下率は39.7%)。今回、PPAR γ の作動薬であるインスリン抵抗性改善薬(pioglitazone 15 mg/day)を6ヶ月間投与したところ、インスリン基礎値は、87→14 μ g/mlへ、HOMA-Rは、17.2→3.5へと著明な低下を示した。

Leprechaunism患児については、FPG 41 mg/dl, 血中IRI 6,702 mU/mLと著明なインスリン感受性低下を示したが、IGF-1 1.0 mg/kg/dayの持続投与により、IRI/glucose比の有意な低下を示した。

今回、核内受容体のPPAR γ のリガンドであるインスリン抵抗性改善薬(pioglitazone)の投与により、インスリン基礎値、HOMA-Rの著しい改善がみられインスリン感受性が改善したことは、本症のインスリン作用障害部位は、細胞内の脂肪分化にかかわる情報伝達系と関連していることを推測させるものである。

一方、インスリン受容体の遺伝子異常による発症するleprechaunism児では、血中IRI 6,702 mU/mLと著明なインスリン感受性低下を示したが、IGF-1の持続投与により、IRI/glucose比の有意な低下を示した。このことから、本例のようなインスリン受容体の完全な機能喪失(複合ヘテロ接合体)状態でも、IGF-1受容体を介したインスリンまたはIGF-1受容体以後の情報伝達系を利用することにより、糖取り込み作用が認められることが明らかとなった。

上記の2種のインスリン作用にかかわる疾患の病態解析から、インスリン受容体(leprechaunism)、またはインスリン受容体後情報伝達系(アルストレーム症候群)のどちらの系の異常においても、IGF-1リガンドはPG低下作用を示しうることが推測された。また、脂肪分化の経路も直接的または間接的に、インスリン受容体後情報伝達系に関与している可能性が示唆された。

(2) 遺伝子多型と表現型の解析

β 3ARの野生型(WW)は28例(59.6%)、Arg64Trp変異と野生型のヘテロ接合体(WR)は19例(40.4%)、Arg64Trp変異のホモ接合体(RR)は0例(欠損値3)であった。Rのallele頻度は0.253であり、一般成人の0.20と比較してやや高

値であった。出生時体重3000g未満と3000g以上の2群に分けて検討した。3000g未満群は8例で、WW 5例、WR 3例、肥満度+42.5 \pm 19.4%、3000g以上群は24例で、WW 18例、WR 6例、肥満度+50.4 \pm 19.2%であった。遺伝子型に有意な差は認めなかった。両群間で、肥満とメタボリック症候群に関連する表現型に差を認めなかった。

肥満関連遺伝子多型と表現型との関連については、今まで多くの報告がなされているが、有意な関連を認めたものの多くは、成人以降の表現型を評価の対象としたものが多いことは、今回の研究結果と同様であった。

(3) アディポサイトカイン動態解析

母児間での、周産期アディポサイトカイン動態について検討した。新生児leptin値は児BMIと相関し、母体leptin値は母分娩時体重と相関したが、児leptin値と母体leptin値の相関は認められなかった。血中総adiponectin値は、産褥期の母とその新生児の間で有意な相関は見られなかった。

周産期のアディポサイトカイン動態については、母子それぞれに体脂肪量を反映しているとの報告が多い。今回の検討では、子宮内環境の差異とアディポサイトカイン動態の関連を明らかにすることはできなかった。

このように、肥満やメタボリックシンドロームの発症には、生活習慣要因・環境要因に加えて遺伝要因が関与している。この遺伝要因は、軽微な異常で頻度の高いもの(遺伝子多型)から、高度の異常で頻度の少ないもの(単一遺伝子病)までの幅広いスペクトラムを形成している。厚労省により、成人病から生活習慣病へと名称が変更されて、国民全体が生活習慣を是正する方向に進むことは必要なことではあるが、特に小児期のように生活習慣の関与する時間が短い場合には、遺伝要因の影響が強いことを念頭に置いて、「生活習慣病」の用語を使用する必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計16件)

1) Leprechaunism (Donohue syndrome): A case bearing novel compound heterozygous mutations in the insulin receptor gene. Kawashima Y, Nishimura R, Utsunomiya A, Kagawa R, Funata H, Fujimoto M, Hanaki K, Kanzaki S. *Endocr J* 60(1): 107-12, 2013. 査読あり

2) Hanada T, Okuno K, Okada S, Fujimoto M, Kuranobu H, Hashida Y, Ueyama J, Murakami J, Hayashi A, Hanaki K, Kanzaki S. Castleman disease in a child with short stature. *Pediatr Int* 54(5): 720-4, 2012. doi: 10.1111/j.1442-200X.2012.03589.x. 査読あり

- 3) Novel missense mutation in the IGF-I receptor L2 domain results in intrauterine and postnatal growth retardation. Kawashima Y, Higaki K, Fukushima T, Hakuno F, Nagaishi J, Hanaki K, Nanba E, Takahashi S, Kanzaki S. Clin Endocrinol (Oxf) 77(2): 246-54, 2012. doi: 10.1111/j.1365-2265.2012.04357.x. 査読あり
- 4) 花木啓一、藤本正伸、長石純一. 肥満. 小児科診療 75 (3), 399-405, 2012. 査読なし
- 5) 宮原史子、長石純一、林 篤、宮原直樹、西村 玲、花田卓也、村上 潤、岡田晋一、花木啓一、神崎 晋. 心因性多飲として経過観察され、両側水腎症と巨大膀胱を呈した部分型腎性尿崩症. 小児科 53 (1), 119-123, 2012. 査読なし
- 6) Sugihara S, Ogata T, Kawamura T, Urakami T, Takemoto K, Kikuchi N, Takubo N, Tsubouchi K, Horikawa R, Kobayashi K, Kasahara Y, Kikuchi T, Koike A, Mochizuki T, Minamitani K, Takaya R, Mochizuki H, Nishii A, Yokota I, Kizaki Z, Mori T, Shimura N, Mukai T, Matsuura N, Fujisawa T, Ihara K, Kosaka K, Kizu R, Takahashi T, Matsuo S, Hanaki K, Igarashi Y, Sasaki G, Soneda S, Teno S, Kanzaki S, Saji H, Tokunaga K, Amemiya S. HLA-class II and class I genotypes among Japanese children with Type 1A diabetes and their families. Pediatr Diabetes. 2012 Feb;13(1):33-44. doi: 10.1111/j.1399-5448.2011.00833.x. 査読あり
- 7) Fukami M, Shozu M, Soneda S, Kato F, Inagaki A, Takagi H, Hanaki K, Kanzaki S, Ohyama K, Sano T, Nishigaki T, Yokoya S, Binder G, Horikawa R, Ogata T. Aromatase excess syndrome: identification of cryptic duplications and deletions leading to gain of function of CYP19A1 and assessment of phenotypic determinants. J Clin Endocrinol Metab. 2011 Jun; 96(6): E1035-43. doi: 10.1210/jc.2011-0145. 査読あり
- 8) 西村直子、遠藤有里、南前恵子、木村真司、高梨 都、堀川玲子、田中敏章、有阪 治、神崎 晋、花木啓一. 低身長児が自分の身長に抱くイメージと心理社会的適応の関連: 対面式イメージ身長評価法を用いて. 日本成長学会雑誌 17 (1), 33-40, 2011. 査読あり
- 9) 木村真司、遠藤有里、南前恵子、鈴木康江、西村直子、谷本弘子、花木啓一. 小児の食行動の特徴と肥満発症の関連: イラスト選択法と質問紙法を用いた食行動評価の試み. 肥満研究 17(1), 54-61, 2011. 査読あり
- 10) 花木啓一. 小児期の肥満対策. 肥満研究 17(3), 179-185, 2011. 査読なし
- 11) Okada T, Ohzeki T, Nakagawa Y, Sugihara S, Arisaka O, Fujieda K, Asayama K, Tamai H, Hanaki K, Hara M, Kikuchi T, Kajiwara J. Impact of leptin and leptin-receptor gene polymorphisms on serum lipids in Japanese obese children. Acta Paediatr. 2010 Aug; 99(8): 1213-7. 査読あり
- 12) 遠藤有里、櫻井由美、木村真司、石原千絵子、鈴木康江、南前恵子、長石純一、神崎 晋、花木啓一. 胎児期・新生児期の体重増加量と周産期指標の関連. 小児保健研究 69(3) 373-379, 2010. 査読あり
- 13) 鈴木康江、前田隆子、遠藤有里、藤田小矢香、池田智子、南前恵子、西村正子、木村真司、花木啓一. 出生時体重が母親の育児に及ぼす影響 0~12歳児を持つ保護者への調査. 米子医学雑誌 61(3) 93-99, 2010. 査読あり
- 14) 花木啓一. メタボリックシンドロームの発症要因: 遺伝要因. 小児科診療 73(2) 211-216, 2010. 査読なし
- 15) 花木啓一、岩谷有里子、長石純一、神崎 晋. 小児肥満の管理—介入・治療における留意点, 日本臨床 68(増刊 2) 692-696, 2010. 査読なし
- 16) 花木啓一、宮原直樹、西村 玲、鞆嶋有紀、長石純一、神崎 晋. 奇形症候群と低身長: Prader-Willi症候群とNoonan症候群を中心に. 小児内科 42(4) 587-592, 2010. 査読なし
- [学会発表] (計 11 件)
- 1) Fujimoto M, Kawashima Y, Hamajima N, Nishimura R, Hanaki K, Kanzaki S. SGA short stature bearing with a nonsense mutation (p.Q1220X) of the IGF-I receptor. The 94th meeting of the Endocrine Society, Houston, USA, June 23-26, 2012.
- 2) Hanaki K. Genetic Backgrounds and Metabolic Syndrome in Obese Children in the Eastern World. Pediatric Academic Societies and Asian Society for Pediatric Research Joint Meeting in Denver, CO, USA, April 30-May 3, 2011.
- 3) 藤本正伸、宮原直樹、西村 玲、鞆嶋有紀、

花木啓一、神崎 晋. CSII・カーボカウントの導入が治療意欲の向上に有効であった1型糖尿病の1例. 中国四国小児糖尿病懇話会, 高知, Dec 4, 2010.

4) 西村直子, 遠藤有里, 南前恵子, 木村真司, 高梨 都, 堀川玲子, 田中敏章, 有阪治, 神崎 晋, 花木啓一. 低身長児が自分の身長に抱くイメージと心理社会的適応の関連: 対面式イメージ身長法と従来法の比較. 第21回 日本成長学会学術集会, 東京, Nov 13, 2010.

5) 木村真司, 遠藤有里, 南前恵子, 鈴木康江, 花木啓一. 新しい食行動評価法による小児の食行動と肥満発症リスクの関連解析. 第31回 日本肥満学会, 前橋, Oct 1, 2010.

6) 花木啓一. 小児肥満症治療の展望. 第31回 日本肥満学会 シンポジウム4: 新たな肥満治療(小児科分野)の夜明け, 前橋, Oct 1, 2010.

7) 中田峰子, 南前恵子, 遠藤有里, 松浦治代, 花木啓一. 発達障害のある子どもの支援に伴う保育者の困難感—幼稚園・保育園の職員へのアンケート調査より—. 第57回日本小児保健学会, 新潟, Sep 17, 2010.

8) 南前恵子, 松浦治代, 遠藤有里, 佐々木くみ子, 花木啓一. 発達障がいのある子どもの支援に伴う教員の対応と困難感. 第57回日本小児保健学会, 新潟, Sep 17, 2010.

9) 遠藤有里, 南前恵子, 松浦治代, 佐々木くみ子, 花木啓一. 発達、行動面で気になる子どもへの気づきと対応—幼稚園・保育園と小学校の職員への調査結果の比較—. 第57回日本小児保健学会, 新潟, Sep 17, 2010.

10) 木村真司, 遠藤有里, 南前恵子, 鈴木康江, 谷本弘子, 花木啓一. 小児の食行動の特徴と肥満発症の関連—イラスト選択法と質問紙法を用いた食行動評価の試み—. 第57回日本小児保健学会, 新潟, Sep 17, 2010.

11) Nishimura N, Endo Y, Minamimae K, Takanashi M, Arisaka O, Kanzaki S, Tanaka T, Hanaki K. Needs of mothers who has children with short stature medical referred. The 12th World Congress of the World Association for Infant Mental Health, Leipzig, Germany, June 29 - July 3, 2010.

[図書](計4件)

1) 木村真司, 花木啓一. 小児の生活習慣アンケート: 清水俊明他編, 小児生活習慣病ハンドブック p74-79, 中外医学社, 東京, 2012. 査読なし

2) 花木啓一. 性分化疾患. 大関武彦, 古川 漸, 横田俊一郎, 水口 雅 編: 今日の小児治療指針 第15版. pp602-604, 医学書院, 東京, 2012. 査読なし

3) 花木啓一. 環境因子(生活習慣要因を含む), 肥満の原因. 小児科学レクチャー 2 (5), 1059-1065, 2012. 査読なし

4) 木村真司, 遠藤有里, 南前恵子, 花木啓一. 小児の心理特性からみた栄養指導: 清水俊明他編, 小児臨床栄養学 p242-425, 診断と治療社, 東京, 2010. 査読なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

花木 啓一 (HANAKI KEIICHI)
鳥取大学・医学部・教授
研究者番号: 20238041

(2) 研究分担者

長田 郁夫(NAGATA IKUO)
鳥取大学・医学部・准教授 (H22, H23)
研究者番号: 50252846

神崎 晋(KANZAKI SUSUMU)
鳥取大学・医学部・教授
研究者番号: 90224873