

氏名(本籍)	中 <sup>なか</sup> 伊津美 <sup>いつみ</sup> (東京都)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第 6592 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	<b>Association of a functional polymorphism in the upstream region of the <i>ADRB2</i> gene with obesity in the Oceanic populations</b> (オセアニア集団における <i>ADRB2</i> 遺伝子上流領域の機能的多型と肥満との関連)
主査	筑波大学教授 医学博士 有波 忠雄
副査	筑波大学教授 医学博士 本田 克也
副査	筑波大学准教授 博士(医学) 野口 恵美子
副査	筑波大学准教授 博士(医学) 松坂 賢

## 論文の内容の要旨

### (目的)

南太平洋に位置するオセアニアは、地理学的にメラネシア、ミクロネシア、ポリネシアに、言語学的には非オーストロネシア (NAN) 語族とオーストロネシア (AN) 語族とに分類される。人類学的、考古学的、言語学的研究などにより、人類のオセアニア地域への大規模な移住が、過去 2 回あったことが分かっている。

近年、オセアニア地域において、肥満などの生活習慣病の割合が増加し、深刻な健康問題となっている。これまで、肥満と関連する遺伝子多型の探索は、ヨーロッパ集団やアジア集団を対象に精力的に行われており、 $\beta 2$  アドレナリンレセプター遺伝子 (*ADRB2*) は広く認識された肥満関連遺伝子の一つである。24 集団を対象としたメタ解析により、*ADRB2* の 27 番目のアミノ酸置換を伴う単一塩基多型 (SNP) (rs1042714, E27Q) の 27 グルタミン酸アリル (27Glu) は、主にモンゴロイド集団において肥満のリスクを有意に高めることが報告されているが、これまで、*ADRB2* 多型と肥満との関連について、オセアニア集団を広域に調べた研究はなかった。

本論文は、オセアニア集団の遺伝子解析を通して、オセアニア集団における *ADRB2* 多型と肥満との関連を評価するとともに、肥満リスクアリの機能的意義、および分子進化過程を理解することを目的とした。

### (対象と方法)

ニューギニア南部に居住する NAN 語族メラネシア 1 集団 (ギデラ)、ニューギニア島北部のバロパ島に居住する AN 語族メラネシア 1 集団 (バロパ)、ソロモン諸島に居住する AN 語族メラネシア 2 集団 (ムンダ、クサゲ) と AN 語族ミクロネシア 1 集団 (ラウキ)、トンガに居住する AN 語族ポリネシア 2 集団 (ハアパイ、ヌクアロファ) を対象とした。身体計測値のある 5 集団 (ムンダ、クサゲ、ラウキ、ハアパイ、ヌクアロファ) に属する計 694 名を対象に、*ADRB2* 遺伝子全領域の変異スクリーニングを行い、検出された多型についてタグ SNP を選定し、TaqMan 法と DigiTag2 法で遺伝子型を決定した。タグ SNP 以外の SNP については、HapMap 東アジア人サンプルの遺伝子型をリファレンスとし fastPHASE プログラムを用いてオセアニア集団

の遺伝子型を推定した。身体計測値や肥満との関連を、年齢、性別、集団を調整した重回帰分析および多重ロジスティック回帰分析を用いて検討した。共分散分析を用いて、遺伝子型と BMI との関連についても検討した。リポーター遺伝子アッセイおよび電気泳動移動度シフトアッセイにより、肥満と有意に関連を示した rs34623097 の両アリル間での機能の差を評価した。

1000 人ゲノムデータベースから、肥満リスクアリル頻度 (rs34623097-A) の地理的分布を調べるとともに、周辺 SNP を含めて ADRB2 ハプロタイプ解析を行った。さらに、UCSC データベースで公開されているネアンデルタール人ゲノムの配列を精査し、ネアンデルタール人の ADRB2 ハプロタイプを推定し、現生人類の ADRB2 ハプロタイプと比較した。

#### (結果)

ADRB2 の変異スクリーニングにより 17 個の SNP を検出し、タグ SNP を含めて 9 個の SNP の遺伝子型を決定した。多重ロジスティック回帰分析の結果、ADRB2 遺伝子上流領域に存在する rs34623097 を含む 5 つの SNP が肥満と有意に関連した。Bonferroni 補正後も、当該 SNP は肥満と有意な関連を示した。また、先行研究で報告されている 27Glu アリルと肥満との関連を追認した。遺伝子型を推定した 34SNP を加えた場合でも、rs34623097-A アリルが肥満と最も強い関連を示した ( $P = 5.6 \times 10^{-4}$ , odds ratio [OR] = 2.5)。rs34623097 の遺伝子型と BMI の共分散分析から、GG 遺伝型と比較して、A アリルがアリル数依存的に BMI 高値と関連することも見出した。

rs34623097-A アリルと 27Glu には、連鎖不平衡が認められた。rs34623097-A や 27Glu を含め、単独で関連を示す 5 つのアリルを独立変数として同時にロジスティック回帰分析を施行したところ、rs34623097 のみが肥満と有意な関連を示した。

リポーター遺伝子アッセイにおいて、rs534623097-A アリルは rs34623097-G アリルに比べて 10% 低いプロモーター活性を示した。さらに、電気泳動移動度シフトアッセイにおいて、rs34623097-A アリルと特異的に結合する核内タンパクの存在が示唆された。

rs34623097-A アリルは、オセアニア集団の他に、東アジア集団とフィンランド集団においても観察されている。ADRB2 遺伝子の周辺 SNP を含めて連鎖不平衡解析を行った結果、肥満と関連する rs34623097-A アリルの連鎖不平衡は遠方まで及んではいなかった。さらに、rs34623097-A アリルおよび当該アリルが乗るハプロタイプを、ネアンデルタール人が保有していることが明らかになった。

#### (考察)

本研究において、rs34623097-A アリルとともに、先行研究においてモンゴロイド集団で関連が報告されてきた 27Glu が、オセアニア集団における肥満関連アリルとして検出されたが、ロジスティック回帰分析の結果から、rs34623097-A が一義的な肥満関連アリルであり、27Glu と肥満との関連は、rs34623097-A アリルとの連鎖不平衡による二次的なものであることが示唆された。リポーター遺伝子アッセイ、電気泳動移動度シフトアッセイからも、rs34623097 が機能的 SNP であることが支持された。

先行研究において、肥満者の脂肪組織で ADRB2 の発現量が低下していることが観察されている。しかし、ADRB2 の発現量の低下は、肥満の原因ではなく、肥満に起因している可能性があった。本研究において、肥満と関連する rs34623097-A アリルが ADRB2 の発現量低下をもたらすことが明らかとなったことから、ADRB2 の発現量低下は肥満において原因的な意義を有する可能性が支持された。ADRB2 は肥満治療に向けた創薬研究の有望な分子標的と考えられる。また、ネアンデルタール人と現生人類は、rs34623097-A アリルを含んだ SNP ハプロタイプを共有していることが確認された。アフリカ系集団では rs34623097-A が観察されないことから、rs34623097-A アリルは現生人類の直接の祖先 (ホモサピエンス) において誕生したのではなく、ネアンデルタール人ゲノムに生じた突然変異であり、両者の混血によって現生人類の祖先に遺伝子流入したと推察される。

ADRB2の上流領域に存在する『S34623097のAアリルが、オセアニア集団において肥満と強い関連を示すことを見いだした。rs34623097-AアリルはADRB2の発現量を低下させることから、ADRB2の発現量低下が肥満を惹起する要因の一つと考えられる。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文はこれまで民族間で結果が一致しなかったADRB2遺伝子多型と肥満の関連に関して、オセアニア集団を対象に解析することにより、この関連が分子進化過程に基づく民族依存的な遺伝子構成によることを明らかにした意義深い論文である。本論文は、肥満には民族依存的な要因が絡んでいること、ADRB2遺伝子の機能が肥満に関係していることが明確に示す論文として広く引用されるであろう。

平成25年1月8日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。