

2 型糖尿病原因遺伝子レジスチンを標的とした エピジェネティクスによる血中濃度制御機構の解明

愛媛大学大学院医学系研究科分子遺伝制御内科学
教授 大澤 春彦

共同研究者

愛媛大学大学院医学系研究科分子遺伝制御内科学	准教授	大沼 裕
愛媛大学大学院医学系研究科分子遺伝制御内科学	講師	西田 亙
愛媛大学医学部附属病院検査部	講師	高田 康徳
愛媛大学大学院医学系研究科統合医科学	講師	田原 康玄

はじめに

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 1)。申請者らは、これまでに、レジスチンのプロモーターに存在する一塩基多型 (SNP) -420 が 2 型糖尿病リスクと関連すること 2)、及び血中レジスチンが SNP-420 および SNP-358 により強く規定されていることを報告した 3) 4)。統計的に解析すると、血中レジスチンの変動の 26% は SNP-420 により説明される 5)。一方、レジスチンの遺伝子発現ならびに血中濃度は、SNP-420 のみならずそれ以外の遺伝因子・環境因子によっても制御されていると考えられる。エピジェネティクスのメカニズムの一つに DNA のメチル化がある。環境因子は、DNA メチル化を変化させ、遺伝子発現を制御する。遺伝因子である SNP に加え、DNA メチル化により血中レジスチンは制御されている可能性がある。本研究は、感受性 SNP と環境因子をリンクする DNA メチル化の 2 型糖尿病およびインスリン抵抗性における意義を明らかにすることを目的とする。

成果

レジスチン遺伝子転写調節領域に存在し、我々が見出した糖尿病感受性 SNP である SNP-420 近傍の 5 か所の CpG のシトシンメチル化率をパイロシーケンス法により解析を行った。

1) パイロシーケンス法は、我々が新規に導入したシーケンス法であるため、5 か所のシトシンメチル化測定について基礎検討を行った。各部位について、メチル化解析の定量性を担保する至適なプライマー、至適な反応条件の設定を行った。さらに、近傍に SNP が存在する場合でも定量性を持つ、至適なプライマー及び反応条件を設定した。

2) 解析した 5 か所のシトシンメチル化率は、20% から 80% と、それぞれのシトシン間で大きな差が認められた (図 1)。

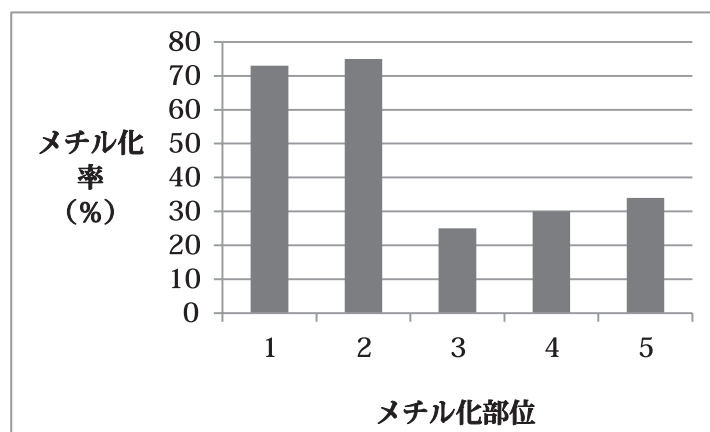


図1. レジスチン遺伝子プロモーター領域に存在するSNP-420の近傍の5か所のシトシンのメチル化率は、部位により差が認められた

3) 設定したそれぞれの条件を用いて、糖尿病患者 30 名および対照 30 名の白血球より抽出した DNA のメチル化解析を行った。各部位のメチル化について、両群間に有意な差は認められなかった。

考察

レジスチン遺伝子転写調節部位に存在する有力な 5 か所のシトシンメチル化の解析を行い、周囲に SNP が存在する場合でも、定量的にシトシンメチル化が解析可能であることを確認した。5 か所のシトシンメチル化の解析の結果、シトシン部位間でのメチル化に差があることが明らかになった。このことより、この 5 か所の DNA のメチル化は、マーカーとして多サンプルを用いた解析に使用可能であると考えられた。

今後、本研究の成果をもとに、5 か所のシトシンメチル化部位をさらに絞りこみ、有用な 1、2 か所のシトシンメチル部位を決定する。周囲の SNP の遺伝子型の組み合わせを考慮したメチル化率と 2 型糖尿病感受性、血中レジスチン濃度の関連を多数例で解析する。

要約

レジスチン遺伝子転写調節領域の DNA メチル化解析を行った。SNP-420 近傍の DNA メチル化に差が認められた。DNA メチル化は 2 型糖尿病感受性、血中レジスチン濃度のマーカーになる可能性が示唆された。今後、SNP に加え DNA メチル化を検討する意義があると考えられた。

文献

- 1) Stepan, C.M., Bailey, S.T., Bhat, S., Brown, E.J., Banerjee, R.R., Wright, C.M., Patel, H.R., Ahima, R.S., and Lazar, M.A. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 409: 307-312, 2001.
- 2) Osawa, H., Yamada, K., Onuma, H., Murakami, A., Ochi, M., Kawata, H., Nishimiya, T., Niiya, T., Shimizu,

- I., Nishida, W., Hashiramoto, M., Kanatsuka, A., Fujii, Y., Ohashi, J., and Makino, H. The G/G genotype of a resistin single-nucleotide polymorphism at -420 increases type 2 diabetes mellitus susceptibility by inducing promoter activity through specific binding of Sp1/3. *Am J Hum Genet* 75: 678-686, 2004.
- 3) Onuma, H., Tabara, Y., Kawamoto, R., Shimizu, I., Kawamura, R., Takata, Y., Nishida, W., Miki, T., Kohara, K., Makino, H., and Osawa, H. A at single nucleotide polymorphism-358 is required for G at -420 to confer the highest plasma resistin in the general Japanese population. *PLoS One* 5: e9718, 2010.
- 4) Osawa, H., Tabara, Y., Ohashi, J., Kawamura, R., Onuma, H., and Makino, H. Is rs34861192 or rs1862513 a more promising variant for determining plasma resistin in an aged Japanese population? *Diabetologia* 53: 795-797, 2010.
- 5) Osawa H., Tabara, Y., Kawamoto, R., Ohashi, J., Ochi, M., Onuma, H., Nishida, W., Yamada, K., Nakura, J., Kohara, K., Miki, T., and Makino, H. Plasma resistin, associated with single nucleotide polymorphism -420, is correlated with insulin resistance, lower HDL, and high sensitivity CRP in the Japanese general population. *Diabetes Care* 30: 1501-1506, 2007.