

Title	核内転写因子PPAR γ の遺伝子多型の臨床的意義および in vitro における基盤研究：とくに脂質代謝および 初期動脈硬化への影響について
Author(s)	岩田, 悦子
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44151
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていない ため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利 用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文につい て 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	岩 田 悦 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (臨床薬学)
学位記番号	第 17786 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学位論文名	核内転写因子 PPAR γ の遺伝子多型の臨床的意義および <i>in vitro</i> における 基盤研究—とくに脂質代謝および初期動脈硬化への影響について—
論文審査委員	(主査) 教授 東 純一 (副査) 教授 馬場 明道 教授 真弓 忠範 教授 小林 資正

論文内容の要旨

近年、日本では、生活様式の欧米化に起因するインスリン抵抗性を伴った肥満が増えるとともに、糖尿病などの生活習慣病が急増している。インスリン抵抗性とは標的臓器におけるインスリン作用の低下を意味し、肥満により脂肪細胞で産生される TNF α や遊離脂肪酸 (FFA) がインスリンのシグナル伝達を抑制することにより惹起される。インスリン抵抗性を基盤とする 2 型糖尿病は遺伝要因に環境要因が加わって発症し、多様な病態を呈して進展する。個々の患者の内・外的危険因子の解析は治療設計に重要な情報を提供できる。なかでも、糖尿病の疾患関連遺伝子の多型と、肥満やインスリン抵抗性に関連の深い糖・脂質代謝異常との関連性を詳細に検討することは、患者の QOL に重要である。肥満は脂肪組織への中性脂肪の蓄積であり、細胞レベルでは脂肪細胞の増大である。脂肪細胞の分化や肥大化のキーレギュレーターとして、核内転写因子 PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) の存在が明らかとなっている。さらに、PPAR γ 遺伝子のプロモーター選択によって生じる PPAR γ 2 遺伝子の Pro12Ala 多型の保有者は非保有者に比し BMI (body mass index) 値が低く、かつ、インスリン抵抗性の出現は軽度であると報告されている。

そこで、2 型糖尿病患者において、PPAR γ 2 遺伝子多型と糖・脂質代謝機能との関連性を検討するとともに、日本で未報告のドミナントネガティブ変異、Val290Met と Pro467Leu の保有者の検索を行った。次に、脂質代謝異常は動脈硬化の危険因子であることから、この多型と動脈硬化の進展および糖尿病の病態における影響をレトロスペクティブに解析した。最後に、FFA と、FFA の代謝酵素である acyl-CoA synthetase (ACS) mRNA の発現量および PPAR α 、 γ との関連性について、ヒト肝がん由来 HepG2 細胞を用いて *in vitro* で検討した。

第一に、文書による同意の得られた 2 型糖尿病患者 106 人を対象に、末梢血ゲノム DNA を精製し、PCR-RFLP 法により PPAR γ 遺伝子変異を検索したところ、Val290Met および Pro467Leu の変異保有者は今回の対象患者中には存在しなかった。また、Ala12 アレルの保有の有無と臨床検査値との関連について解析を行ったが、両者間で関連性は認められなかった。さらに、PPAR γ と肥満との関連性に注目して、BMI の中央値 23 で二分したところ、BMI \geq 23 のグループにおいて Ala12 アレル保有者群は非保有者群に比し、有意に低い血清 TC (total cholesterol)、non-HDLc (high density lipoprotein cholesterol) 濃度を示した。

第二に、文書による同意の得られた 2 型糖尿病患者 154 人を対象に、Ala12 アレルの保有の有無で二分した群間で初期動脈硬化の指標とされる頸動脈内中膜複合体肥厚度 (IMT) を比較した。Ala12 アレル保有者群は非保有者群

に比して有意に低い IMT 値を示した。さらに、2型糖尿病の病態に着目して、インスリン治療の有無で二分した群内で、この多型と IMT の関連を検討した。インスリン非投与群においてのみ、Ala12 アレル保有者群は非保有者群に比し有意に低い IMT 値を示した。すなわち、Ala12 アレルの保有者は IMT の低値と関連があり、糖尿病の病態については、インスリン治療を必要としない初期の段階で関連性が認められた。

PPAR γ 2 遺伝子の Pro12Ala 多型の保有者は、脂肪合成・分解が低下しているため血中に放出される FFA 量が低下していることが報告されている。今回の2型糖尿病の Ala12 アレルの保有者群が、非保有者群に比して、血清 TC、non-HDLc および IMT において低値を示した結果は、FFA 量の低下に起因することが推察された。

肝において、門脈より流入する FFA が代謝・異化されるためには ACS による活性化が必須となる。肥満モデルラットを用いた実験では、内臓脂肪の蓄積とともに門脈血 FFA 量、肝 ACS mRNA 量および ACS 活性が上昇し、高 VLDL (very low density lipoprotein)-TG(triglyceride)血症が認められている。そこで、ヒト肝がん由来 HepG2 細胞を用いて肝 ACS に対する脂肪酸の影響を検討した。

HepG2 細胞に種々の濃度の脂肪酸や薬剤を添加し、RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction) 法を用いて ACS mRNA 発現量を定量するとともに PPAR α 、 γ mRNA の発現を調べた。PPAR α のアゴニストである Wy14643、飽和脂肪酸パルミチン酸、あるいは抗高脂血症薬のベザフィブラートは ACS mRNA を誘導しなかった。そこで、PPAR α および γ の両アゴニストとして知られる不飽和脂肪酸のリノール酸あるいは抗糖尿病薬のピオグリタゾンを用いて同検討を行ったところ、両者ともに ACS mRNA 量の増加を認めた。HepG2 細胞においては PPAR α mRNA 発現のみならず PPAR γ mRNA の発現も認めたことから、HepG2 細胞において ACS mRNA 発現が PPAR α よりむしろ PPAR γ の制御を受けていることが示唆された。すなわち、不飽和脂肪酸やピオグリタゾンは、PPAR γ を介して ACS mRNA 量を増加させ、脂質の代謝や異化を促進する可能性が推察された。

以上、本研究において、血中 FFA 量が少ない PPAR γ 2 遺伝子の Pro12Ala 多型を有する場合は ACS の活性化は起こりにくく、肝 VLDL 分泌量の低下につながる可能性が考えられた。その結果、血清 TC、non-HDLc および IMT が低値となって脂質代謝異常や動脈硬化への進展を遅延させることが示唆された。しかし、Pro12Ala 多型の保有者は、糖尿病を発症しにくい、一旦、糖床病を発症すると病状が重篤になる可能性が高いという報告がある。したがって、糖尿病での臨床上留意すべきことは、薬物療法や運動療法において、一層厳密な糖・脂質代謝の管理を行うことであると思われる。

論文審査の結果の要旨

近年、我国において急増している2型糖尿病は、遺伝的素因に環境要因が加わって発症する生活習慣病である。本疾患関連遺伝子多型と糖・脂質代謝能との関連性を検討することは、患者の治療計画および QOL の向上に重要である。糖・脂質代謝異常と関連の深い肥満やインスリン抵抗性は脂肪細胞の肥大により惹起される。脂肪細胞の分化や肥大化を制御する核内転写因子 PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) と肥満やインスリン抵抗性との関連の報告はあるが、脂質代謝異常や動脈硬化との関連についての報告はほとんどない。本研究では2型糖尿病患者における PPAR γ 2 遺伝子多型と脂質代謝能との関連性を検討し、我国で未報告の2種のドミナントネガティブ変異の保有者の検索を行っている。

PPAR γ 2 遺伝子の Pro12Ala について、肥満患者群では Ala12 アレルの保有者で脂質代謝異常の指標(non-HDLc) および初期動脈硬化の指標(頸動脈内中膜複合体肥厚度:IMT)が低値であった。また、脂肪酸濃度と脂肪酸活性化酵素の誘導との相関が *in vitro* 実験で示された。血中脂肪酸が低値となる PPAR γ 2 遺伝子 Pro12Ala 多型保有者では、異化脂質も低値となる可能性が示唆された。これが低 non-HDLc および低 IMT 値という好結果につながることを推察された。なお、我国の2型糖尿病患者では、2種のドミナントネガティブ変異の保有者は存在しなかった。

本研究により、2型糖尿病における PPAR γ 2 の Pro12Ala 遺伝子多型は、脂質代謝異常を基盤とする高脂血症、動脈硬化あるいは虚血性心疾患の進展遅延に寄与することが示唆された。しかし、糖尿病の進行患者では、この多型とインスリン分泌能低下との関連性が報告されているため、臨床上の管理が肝要である。

以上、本研究は PPAR γ 2 遺伝子多型の臨床的な重要性を喚起し、2型糖尿病における「個の医療」の推進に有用な基盤を開拓したもので、博士(臨床薬学)の学位を授与するに相応しいものとする。