

Title	インスリン抵抗性および糖・脂質代謝異常に関与する遺伝子多型の検討
Sub Title	
Author	石井, 達哉(Ishii, Tatsuya)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.1 (2003. 3) ,p.T25- T37
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	学位論文
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030301-0025">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030301-0025</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

学位論文

インスリン抵抗性および糖・脂質代謝異常に関与する  
遺伝子多型の検討

慶應義塾大学医学部内科学教室

(指導：猿田享男教授)

石井 達哉

(平成 14 年 6 月 6 日受付)

Key Word : insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, hyperlipidemia, gene polymorphism, TNF- $\alpha$

肥満、糖尿病、高脂血症および高血圧は、インスリン抵抗性を基盤として、動脈硬化性心血管障害の発症や進展に重要な役割を担っている<sup>1-3)</sup>。このような病態において中心的な役割を果たしている、インスリン抵抗性の発生機構の詳細はいまだ明らかでなく、諸種の遺伝的因子と環境因子とが複雑に関与しているものと考えられている。これまでの諸家の研究により、インスリン抵抗性の発生に関与する遺伝的因子として多くのものが挙げられており、たとえば小腸における脂肪酸の吸収に関与する脂肪酸結合蛋白(以下 FABP2 と略す)の遺伝子多型(Ala54Thr 変異)<sup>45)</sup>、脂肪組織の調節に関与する $\beta_3$ -アドレナリン受容体(以下  $\beta_3$ AR と略す)の遺伝子多型(Trp64Arg 変異)<sup>6-11)</sup>、さらに近年、腫瘍壊死因子として発見された tumor necrosis factor- $\alpha$  (以下 TNF- $\alpha$  と略す)が脂肪細胞からも産生されることが明らかとなり<sup>12)</sup>、この遺伝子多型(G-308A 変異)とインスリン抵抗性との関係も注目されている<sup>13-16)</sup>。以上のほか、脂質代謝との関連で以前から注目されているのが、低比重リポ蛋白受容体(以下 LDL-R と略す)遺伝子であり、この受容体の遺伝子変異が、家族性高コレステロール血症と関係していることも明らかにされている<sup>17-20)</sup>。

本研究では、このようなインスリン抵抗性との関与が想定されている FABP2、 $\beta_3$ AR、TNF- $\alpha$  および LDL-R の遺伝子多型と BMI、血圧、血糖、脂質、血清インス

リン濃度、および脂肪細胞から分泌されるレプチン濃度との関係を、広範な年齢層の日本人男性を対象に検討し、これらの遺伝子多型の臨床的意義を明らかにすることを試みた。

対 象

1.  $\beta_3$ AR 遺伝子の Trp64Arg 多型および FABP2 遺伝子 Ala54Thr 多型の検討

定期健康診断を受診した、21~39 歳の若年男性 196 名、40~65 歳の中老年男性で、空腹時血糖値が 110 mg/dl 未満の正常血糖群 186 名と 110 mg/dl 以上の高血糖群 45 名、および当院内科外來の通院者で 65 歳未満の時に糖尿病と診断された 77 名を高血糖群の対象に加えて検討した。なお対象の選択において、内分泌疾患、ウイルス性、薬剤性および自己免疫性肝機能障害、血清クレアチニン 1.5 mg/dl 以上の腎機能障害を有する者、または全身のステロイド投与を受けている者は除外した。これらの対象において、 $\beta_3$ AR 遺伝子の Trp64Arg 多型および FABP2 遺伝子の Ala54Thr 多型を検討した。さらに、40~65 歳の中老年男性 231 名を、次のようなサブグループに分けて検討した。すなわち、低比重リポ蛋白コレステロール(以下 LDL-C と略す)の値が 160 mg/dl 以上であるか、肝の 3-ヒドロキシメチル 3-グル

本論文は Ishii T, Hirose H, Saito I, Nishikai K, Maruyama H, Saruta T : Tumor necrosis factor alpha gene G-308A polymorphism, insulin resistance, and fasting plasma glucose in young, older, and diabetic Japanese men. *Metabolism* 49 : 1616-1618, 2000 および Ishii T, Hirose H, Kawai T, Hayashi K, Maruyama H, Saito I, Saruta T : Effects of intestinal fatty acid-binding protein gene Ala54Thr polymorphism and  $\beta_3$ -adrenergic receptor gene Trp64Arg polymorphism on insulin resistance and fasting plasma glucose in young to older Japanese men. *Metabolism* 50 : 1301-1307, 2001 の一部を含む。

タリル補酵素 A (HMG-CoA) 還元酵素阻害薬などの高脂血症治療薬の投与を受けている者を高脂血症群とした。一方、治療薬なしで LDL-C 値が 160 mg/dl 未満の者を正脂血症群として検討した。

## 2. TNF- $\alpha$ 遺伝子 G-308A 多型の検討

定期健康診断を受診した、21~29 歳の若年男性 122 名、45~65 歳の中老年男性 177 名 および当院内外科来に通院中の 42~78 歳の男性 2 型糖尿病患者 71 名を対象とした。

## 3. LDL-R 遺伝子 C1773T 多型の検討

定期健康診断を受診した、40~65 歳の中老年男性 246 名を対象とした。さらに、この対象者を前記と同様に、高脂血症群と正脂血症群の 2 群に分けて検討した。

なお、 $\beta$ 3AR および FABP2 の遺伝子多型では、その主たる病態機序がインスリン抵抗性を直接引き起こすのではなく、内臓脂肪蓄積がまず先行し、それに引き続いて糖、脂質代謝異常が徐々に形成されるものと考えられる。そこで、その代謝異常がどの年齢層から発症してくるかを検討するため、全年齢層を対象とした。一方、TNF- $\alpha$  はインスリン抵抗性を、LDL-R は高コレステロール血症を、直接引き起こすのが病態機序である。そこでこの両者は、疾患感受性遺伝子となるか否かを検討する目的で、その疾患罹患率の高い中高年者に対象を絞った。ただし、TNF- $\alpha$  に関しては、若年者での検討も加えた。

以上の対象者全員に対して、事前に十分な説明と同意によるインフォームドコンセントを得た。また、本研究計画は、慶應義塾大学医学部倫理審査委員会で承認を得た。

## 方 法

### 1. 測定

前述の対象者において、身長、体重、血圧 (収縮期および拡張期)、心拍数を測定し、空腹時採血にて採取された血液を用いて、血糖、血清脂質 (TC, TG, HDL コレステロール、LDL-C、遊離脂肪酸)、尿酸値を測定した。このほか、血清インスリンとレプチン濃度を、radioimmunoassay 法にて測定した<sup>21,22)</sup>。またインスリン抵抗性指数は、homeostasis model assessment (以下 HOMA-IR と略す)<sup>23,24)</sup>を用いて計算した。 $HOMA-IR = \text{空腹時血糖 (mmol/l)} \times \text{空腹時インスリン (\mu U/ml)} / 22.5$

### 2. 検体収集と遺伝子多型の解析

EDTA を含むチューブに静脈血 5 ml を採取し、東洋紡績株式会社 (大阪) の核酸分離キット (Mag-Extractor-Genome) を用いて、末梢血液から DNA を抽出した。抽出した DNA のうち、約 500 ng を鋳型として使用した。

FABP2 の 54 番目のアミノ酸のアラニンからスレオニンへの変異は、以下のようにして同定した。プライマーは Baier らの方法<sup>9)</sup>により、5'-ACA GGT GTT AAT ATA GTG AAA AG-3' および 5'-TAC CCT GAG TTC AGT TCC GTC-3' を使用した。MgCl<sub>2</sub> 2 mmol/l, dNTP 各 0.2 mmol/l, プライマー各 5 pmol, Taq DNA polymerase 0.5U を合わせ、全体で 20  $\mu$ l として反応させた (タカラ社, 東京)。DNA は 94°C で 2 分間脱重合し、94°C 45 秒、55°C 1 分のアニーリング、72°C 45 秒の伸長反応のサイクルを 35 回繰り返して増幅した。その後、72°C 10 分の伸長反応を行った。

$\beta$ 3AR の 64 番目のアミノ酸のトリプトファンからアルギニンへの変異は、以下のようにして同定した。プライマーは 5'-CGC CCA ATA CCG CCA ACA C-3' および 5'-CCA CCA GGA GTC CCA TCA CC-3' を使用した。MgCl<sub>2</sub> 2 mmol/l, dNTP 各 0.2 mmol/l, プライマー各 5 pmol, Taq DNA polymerase 0.5U を合わせ、全体で 25  $\mu$ l として反応させた。DNA は 94°C 5 分で脱重合し、94°C、61°C、72°C 各 30 秒のサイクルを 35 回繰り返して増幅した。その後、72°C 10 分の伸長反応を行った。

TNF- $\alpha$  遺伝子の -308 位のグアニン (G) からアデニン (A) への変異は、以下のようにして同定した。プライマーは 5'-AGG CAA TAG GTT TTG AGG GCC AT-3' および 5'-TCC TCC GTG CTG CTC CGA TTC CG-3' を使用した。MgCl<sub>2</sub> 2 mmol/l, dNTP 各 0.2 mmol/l, プライマー各 5 pmol, Taq DNA polymerase 0.5U を合わせ、全体で 20  $\mu$ l として反応させた。DNA は 94°C で 2 分間脱重合し、94°C 1 分、60°C 1 分、72°C 1 分の伸長反応のサイクルを 35 回繰り返して増幅した。その後、72°C 4 分の伸長反応を行った。

LDL-R 遺伝子の 1773 番塩基のシトシン (C) からチミン (T) への変異は、以下のようにして同定した。プライマーは 5'-TCT CCT TAT CCA CTT GTG TGT-3' および 5'-CTT CGA TCT CGT ACG TAA GC-3' を使用した。MgCl<sub>2</sub> 2 mmol/l, dNTP 各 0.2 mmol/l, プライマー各 5 pmol, Taq DNA polymerase 0.5U を合わせ、全体で 20  $\mu$ l として反応させた。DNA は 94°C 5 分で脱重合し、94°C 1 分、56°C 1 分、72°C 1 分の伸長反

応のサイクルを 35 回繰り返して増幅した。その後、72 °C 5 分の伸長反応を行った。

PCR 産物を、約 10 倍量の制限酵素で消化させた。制限酵素は FABP2 では Hha I,  $\beta$ 3AR は Mva I, TNF- $\alpha$  は Nco I, LDL-R は Hinc II を使用し、酵素消化は 37°C で 3 時間行った。そして 0.5x トリス-ホウ酸-EDTA バッファーを用いて、3%のアガロースゲルで電気泳動を行い、エチジウムブロマイドで染色して確認した。 $\beta$ 3AR の PCR 産物は、Mva I の切断部位で 99 塩基と 62 塩基の断片に分けられるが、Trp64Arg 変異があると切断されなくなる。一方、FABP2 の PCR 産物は、Hha I の切断部位で 99 塩基と 81 塩基に分けられるが、Ala54Thr 変異があると切断されなくなる。また、TNF- $\alpha$  の PCR 産物は、Nco I の切断部位で 87 塩基と 20 塩基に分けられるが、G から A への変異があると、切断されなくなる。LDL-R の PCR 産物は、Hinc II の切断部位で 98 塩基と 35 塩基の断片に分けられるが、C1773T 変異があると切断されなくなる。

### 3. 統計学的解析

すべてのデータは、平均値±標準偏差として表した。ノンパラメトリックな検定法として、2 群間の比較には Mann-Whitney の U 検定を、3 群間の比較には Kruskal-Wallis 検定を使用した。また、比率の比較には、 $\chi^2$  検定を用いた。P 値 0.05 未満を統計学的に有意

と解釈した。

## 結 果

### 1. $\beta$ 3AR 遺伝子 Trp64Arg 多型および FABP2 遺伝子 Ala54Thr 多型と 2 型糖尿病、高脂血症との関係について

第 1 表は、中高年者を高血糖群および正常血糖群の 2 群に分けて、 $\beta$ 3AR および FABP2 遺伝子多型の genotype とアレル頻度を比較したものである。高血糖群において  $\beta$ 3AR 遺伝子の Arg64 アレル頻度が低い傾向であり、FABP2 遺伝子の Thr/Thr 型の頻度が高い傾向であったものの、ともに有意差には至らなかった。さらに、同二多型につき、高脂血症群と正脂血症群の 2 群間において genotype とアレル頻度を比較したものが第 2 表である。しかし両群間において、各々の多型の genotype とアレル頻度には有意差を認めなかった。

#### 1) $\beta$ 3AR 遺伝子の Trp64Arg 多型

第 3 表に  $\beta$ 3AR 遺伝子の Trp64Arg 多型と臨床指標、代謝指標との関係を示す。21-39 歳のグループでは 137 名が正常型で、55 名がヘテロ変異 (28.1%)、4 名がホモ変異 (2.0%) であった。本研究では、genotype の頻度はどの対象群においても Hardy-Weinberg の式に合致していた。この若年者のグループでは、Arg64 を有するヘテロ変異群において、正常群と比し HOMA-IR

第 1 表 40~65 歳の中高年男性 308 名における、 $\beta$ 3 アドレナリン受容体遺伝子 Trp64Arg 多型や小腸脂肪結合蛋白遺伝子 Ala54Thr 多型と耐糖能異常との関係

	対 象 者		
	高血糖群	正常血糖群	
$\beta$ 3AR genotype			
Trp/Trp	89 (73.0%)	125 (67.2%)	$\chi^2 = 1.15$
Trp/Arg+Arg/Arg	33 (27.0%)	61 (32.8%)	P = 0.284
Total (n)	122	186	
$\beta$ 3AR allele			
Trp	210 (86.1%)	304 (81.7%)	$\chi^2 = 2.01$
Arg	34 (13.9%)	68 (18.3%)	P = 0.156
FABP2 genotype			
Ala/Ala	50 (41.0%)	66 (33.5%)	
Ala/Thr	53 (43.4%)	106 (53.8%)	$\chi^2 = 3.24$
Thr/Thr	19 (15.6%)	25 (12.7%)	P = 0.198
Total (n)	122	197	
FABP2 allele			
Ala	153 (62.7%)	238 (60.4%)	$\chi^2 = 0.34$
Thr	91 (37.3%)	156 (39.6%)	P = 0.562

数字は検査対象者数、( ) 内は比率。

(Ishii T et al : Metabolism 50 : 1301-1307, 2001<sup>11)</sup> の Table 1 より許可を得て転載)

第2表 40~65歳の中老年男性231名における、β<sub>3</sub>アドレナリン受容体遺伝子 Trp64Arg 多型や小腸脂肪酸結合蛋白遺伝子 Ala54Thr 多型と高LDLコレステロール血症との関係

	対 象 者		
	高脂血症群	正脂血症群	
<b>β3AR genotype</b>			
Trp/Trp	20 (74.1%)	139 (68.1%)	$\chi^2 = 0.39$
Trp/Arg + Arg/Arg	7 (25.9%)	65 (31.9%)	P = 0.531
Total (n)	27	204	
<b>β3AR allele</b>			
Trp	45 (83.3%)	337 (82.6%)	$\chi^2 = 0.18$
Arg	9 (16.7%)	71 (17.4%)	P = 0.893
<b>FABP2 genotype</b>			
Ala/Ala	11 (40.7%)	60 (29.4%)	
Ala/Thr	13 (48.1%)	112 (54.9%)	$\chi^2 = 1.53$
Thr/Thr	3 (11.1%)	32 (15.7%)	P = 0.466
Total (n)	27	204	
<b>FABP2 allele</b>			
Ala	35 (64.8%)	232 (56.9%)	$\chi^2 = 1.24$
Thr	19 (35.2%)	176 (43.1%)	P = 0.266

数字は検査対象者数、( )内は比率。

(Ishii T et al : Metabolism 50 : 1301-1307, 2001<sup>14)</sup>の Table 2 より許可を得て転載)

第3表 21~39歳の男性196名における、β<sub>3</sub>アドレナリン受容体遺伝子 Trp64Arg 多型と臨床指標、代謝指標との関係

	β3AR genotype			P for 3 groups	P for Arg-positive
	Trp/Trp	Trp/Arg	Arg/Arg		
No. of subjects	137 (69.9%)	55 (28.1%)	4 (2.0%)		
Age (years)	25.9±5.0	25.2±4.9	27.0±6.2	NS	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	22.0±3.0	21.9±3.3	21.3±2.5	NS	NS
Systolic blood pressure (mm Hg)	123±17	123±12	112±11	NS	NS
Diastolic blood pressure (mm Hg)	72±10	72±9	65±10	NS	NS
Heart rate (/min)	75±12	79±15	69±10	NS	NS
Glucose (mg/dl)	89.2±8.0	89.2±8.2	91.5±6.6	NS	NS
Insulin (μU/ml)	5.6±3.5	5.7±4.1	7.7±7.3	NS	NS
HOMA-IR (-)	1.2±0.8	1.3±0.9	1.8±1.7	NS	NS
Leptin (ng/ml)	2.5±2.0	3.1±3.0	2.3±1.5	NS	NS
Total cholesterol (mg/dl)	172±31	175±30	157±9	NS	NS
Triglycerides (mg/dl)	85±62	91±38	75±36	NS	0.067
HDL cholesterol (mg/dl)	53±10	54±13	51±14	NS	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	106±25	105±27	91±14	NS	NS
Free fatty acids (mEq/l)	0.36±0.15	0.35±0.17	0.32±0.13	NS	NS
Uric acid (mg/dl)	5.6±1.2	5.7±1.0	6.0±1.6	NS	NS

平均±標準偏差。NS：有意差なし (P>0.1)。

心拍数数の検査対象者数：85名。LDLコレステロール、遊離脂肪酸の検査対象者数：159名。

(Ishii T et al : Metabolism 50 : 1301-1307, 2001<sup>14)</sup>の Table 3 より許可を得て転載)

や血清インスリン、レプチン、中性脂肪の濃度が高値傾向にあった。しかし、その差は統計学的有意差には至らなかった。

40~65歳の中老年者では、125名が正常型で、54名

がヘテロ変異(29.0%)、7名がホモ変異(3.8%)であった(第4表)。このグループで Arg64 を有する者は、正常型より心拍数のみが有意に低値であった (P=0.037)。しかし、本所見の意義に関しては不明である。

第4表 正常血糖の40~65歳の男性186名における、 $\beta_1$  アドレナリン受容体遺伝子 Trp64Arg 多型と臨床指標、代謝指標との関係

	$\beta_3$ AR genotype			P for 3 groups	P for Arg-positive
	Trp/Trp	Trp/Arg	Arg/Arg		
No. of subjects	125 (67.2%)	54 (29.0%)	7 (3.8%)		
Age (years)	51.9±7.4	52.1±7.4	50.4±5.9	NS	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.1±2.7	23.5±2.8	23.1±2.4	NS	NS
Systolic blood pressure (mm Hg)	119±16	121±21	121±9	NS	NS
Diastolic blood pressure (mm Hg)	75±11	78±14	76±3	NS	NS
Heart rate (/min)	75±12	72±12	68±17	NS	0.037
Glucose (mg/dl)	96.6±5.8	97.8±6.5	95.0±4.8	NS	NS
Insulin ( $\mu$ U/ml)	7.6±4.4	8.2±3.8	5.7±1.6	NS	NS
HOMA-IR (-)	1.8±1.1	2.0±0.9	1.3±0.4	NS	NS
Leptin (ng/ml)	3.7±1.7	3.7±1.7	4.6±3.7	NS	NS
Total cholesterol (mg/dl)	206±31	199±29	210±27	NS	NS
Triglycerides (mg/dl)	134±92	149±151	156±102	NS	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	55±16	52±13	53±20	NS	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	124±29	118±30	126±25	NS	NS
Uric acid (Mg/dl)	6.3±1.3	6.3±1.3	6.7±0.9	NS	NS

平均±標準偏差。NS：有意差なし (P>0.1)。

Insulin, HOMA-IR, Leptin の検査対象者数：108名。

(Ishii T et al : Metabolism 50 : 1301-1307, 2001<sup>44)</sup>の Table 4 より許可を得て転載)

第5表 空腹時血糖110以上の40~78歳の男性122名における、 $\beta_1$  アドレナリン受容体遺伝子 Trp64Arg 多型と臨床指標、代謝指標との関係

	$\beta_3$ AR genotype		*P for Arg-positive
	Trp/Trp	Trp/Arg+/Arg/Arg	
No. of subjects	89 (73.0%)	32+1 (27.0%)	
Age (years)	59.9±8.2	58.3±7.6	NS
Duration of diabetes (years)	7.4±6.9	7.3±5.7	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.7±2.9	23.9±2.5	NS
Systolic blood pressure (mm Hg)	132±19	133±24	NS
Diastolic blood pressure (mm Hg)	78±11	76±13	NS
Heart rate (/min)	82±14	79±20	NS
Glucose (mg/dl)	144±40	136±34	NS
HbA <sub>1c</sub> (%)	7.4±1.6	7.3±1.4	NS
Insulin ( $\mu$ U/ml)	9.8±6.8	10.5±6.7	NS
Leptin (ng/ml)	3.7±1.4	4.5±1.8	NS
Total cholesterol (mg/dl)	198±28	201±33	NS
Triglycerides (mg/dl)	160±96	151±70	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	50±14	43±8	0.024
LDL cholesterol (mg/dl)	123±25	134±29	NS
Free fatty acids (mEq/l)	0.53±0.26	0.40±0.19	0.043
Uric acid (mg/dl)	5.7±1.4	6.1±1.7	NS

平均±標準偏差。NS：有意差なし (P>0.1)。 \*Mann-Whitney U test。

Insulin, Leptin の検査対象者数：43名。糖尿病罹患期間, HbA<sub>1c</sub>, 遊離脂肪酸の検査対象者数：69名。

(Ishii T et al : Metabolism 50 : 1301-1307, 2001<sup>44)</sup>の Table 5 より許可を得て転載)

第5表は、空腹時血糖110 mg/dl以上のグループにおいて $\beta_3$ AR 遺伝子の Trp64Arg 多型と臨床指標、代謝指標との関係を示したものである。89名が正常型で、ヘテロ変異は32名(26.2%)、ホモ変異は1名のみ(0.8%)であった。このグループで Arg64 を有する者

は、正常型より血中HDLコレステロール濃度と遊離脂肪酸が有意に低値であった(各々P=0.024, P=0.043)。

## 2) FABP2 遺伝子の Ala54Thr 多型

第6および7表に FABP2 遺伝子の Ala54 Thr 多型

第6表 21~39歳の男性196名における、小腸脂肪酸結合蛋白遺伝子 Ala54Thr 多型と臨床指標、代謝指標との関係

Parameter	FABP2 genotype			P for 3 groups	P for Thr/Thr
	Ala/Ala	Ala/Thr	Thr/Thr		
No. of subjects	83 (42.3%)	78 (39.8%)	35 (17.9%)		
Age (years)	25.6±5.2	25.9±5.0	25.6±4.6	NS	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	22.1±2.5	22.1±3.7	21.3±2.7	NS	NS
Systolic blood pressure (mm Hg)	123±13	122±18	123±13	NS	NS
Diastolic blood pressure (mm Hg)	71±10	72±10	71±8	NS	NS
Heart rate (/min)	74±13	79±17	76±9	NS	NS
Glucose (mg/dl)	89.6±7.6	89.5±8.2	87.8±8.7	NS	NS
Insulin (μU/ml)	5.8±4.2	5.5±3.3	5.7±3.8	NS	NS
HOMA-IR (-)	1.3±0.9	1.2±0.8	1.2±0.7	NS	NS
Leptin (ng/ml)	2.4±1.7	3.0±2.9	2.5±2.2	NS	NS
Total cholesterol (mg/dl)	173±31	172±29	173±33	NS	NS
Triglycerides (mg/dl)	90±43	172±36	102±99	NS	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	54±13	53±9	54±10	NS	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	105±26	106±25	105±26	NS	NS
Free fatty acids (mEq/l)	0.36±0.15	0.36±0.14	0.35±0.20	NS	NS
Uric acid (Mg/dl)	5.5±1.1	5.8±1.2	5.7±1.0	NS	NS

平均±標準偏差。NS：有意差なし (P>0.1)。

心拍出数の検査対象者数：85名、LDL コレステロール、遊離脂肪酸の検査対象者数：159名。  
(Ishii T et al : Metabolism 50 : 1301-1307, 2001<sup>14)</sup>の Table 6 より許可を得て転載)

第7表 正常血糖の40~65歳の男性186名における、小腸脂肪酸結合蛋白遺伝子 Ala54Thr 多型と臨床指標、代謝指標との関係

Parameter	FABP2 genotype			P for 3 groups	P for Thr/Thr
	Ala/Ala	Ala/Thr	Thr/Thr		
No. of subjects	60 (32.3%)	101 (54.3%)	25 (13.4%)		
Age (years)	51.7±7.8	51.7±6.9	52.9±7.8	NS	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.1±2.4	23.4±2.6	23.0±3.7	NS	NS
Systolic blood pressure (mm Hg)	118±17	120±17	121±20	NS	NS
Diastolic blood pressure (mm Hg)	75±11	76±12	78±12	NS	NS
Heart rate (/min)	74±11	73±13	77±16	NS	NS
Glucose (mg/dl)	96.5±6.1	96.5±5.9	99.8±5.6	0.037	0.010
Insulin (μU/ml)	7.4±3.8	8.1±4.5	6.3±2.5	NS	NS
HOMA-IR (-)	1.8±0.9	1.9±1.1	1.5±0.6	NS	NS
Leptin (ng/ml)	3.5±1.5	3.8±2.0	4.0±1.9	NS	NS
Total cholesterol (mg/dl)	205±33	203±29	207±27	NS	NS
Triglycerides (mg/dl)	147±154	130±73	159±126	NS	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	54±16	53±14	58±15	NS	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	122±32	124±28	117±26	NS	NS
Uric acid (mg/dl)	6.5±1.2	6.4±1.3	5.9±1.6	NS	NS

平均±標準偏差。NS：有意差なし (P>0.1)。

Insulin, HOMA-IR, Leptin の検査対象者数：108名。

(Ishii T et al : Metabolism 50 : 1301-1307, 2001<sup>14)</sup>の Table 7 より許可を得て転載)

と臨床指標、代謝指標との関係を示した。FABP2 遺伝子のゲノタイプは Ala/Ala, Ala/Thr, Thr/Thr の3つに分けられ、本研究でのゲノタイプの頻度は、すべて Hardy-Weinberg の式に合致していた。21~39歳のグ

ループでは、各群間で有意な差は認められなかった(第6表)。

第7表に示すように、40~65歳の男性における Thr/Thr のホモ変異群では、他の群に比し空腹時血糖

第8表 21~29歳の若年男性122名における、TNF- $\alpha$ 遺伝子プロモーター領域G-308A多型と臨床指標、代謝指標との関係

TNF- $\alpha$ genotype	TNF1 (Normozygote)	TNF2 (Heterozygote)	P*
n (%)	118 (96.7)	4 (3.3)	
Age (years)	23.5 $\pm$ 1.5	23.3 $\pm$ 0.5	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	21.8 $\pm$ 3.2	21.2 $\pm$ 2.2	NS
Systolic blood pressure (mmHg)	125 $\pm$ 13	122 $\pm$ 16	NS
Diastolic blood pressure (mmHg)	72 $\pm$ 9	66 $\pm$ 6	0.10
Glucose (mg/dl)	89 $\pm$ 6	84 $\pm$ 7	NS
Insulin ( $\mu$ U/ml)	5.3 $\pm$ 3.9	4.8 $\pm$ 1.9	NS
HOMA-IR (-)	1.2 $\pm$ 0.9	1.0 $\pm$ 0.4	NS
Leptin (ng/ml)	2.8 $\pm$ 2.7	1.7 $\pm$ 0.3	NS
Total cholesterol (mg/dl)	171 $\pm$ 29	156 $\pm$ 14	NS
Triglycerides (mg/dl)	78 $\pm$ 36	56 $\pm$ 11	NS
HDL-cholesterol (mg/dl)	53 $\pm$ 11	51 $\pm$ 3	NS
LDL-cholesterol (mg/dl)	102 $\pm$ 25	94 $\pm$ 4	NS
Free fatty acids (mEq/l)	0.38 $\pm$ 0.14	0.42 $\pm$ 0.16	NS
Uric acid (Mg/dl)	5.5 $\pm$ 1.2	5.3 $\pm$ 0.3	NS

平均 $\pm$ 標準偏差。NS：有意差なし (P>0.1)。\* Mann-Whitney U test.  
(Ishii T et al : Metabolism 49 : 1616-1618, 2000<sup>12)</sup>の Table 1 より許可を得て転載)

第9表 45~65歳の中高年男性177名における、TNF- $\alpha$ 遺伝子プロモーター領域G-308A多型と臨床指標、代謝指標との関係

TNF- $\alpha$ genotype	TNF1 (Normozygote)	TNF2 (Heterozygote)	P*
n (%)	172 (97.2)	5 (2.8)	
Age (years)	54.7 $\pm$ 5.8	54.6 $\pm$ 3.8	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.4 $\pm$ 2.7	24.0 $\pm$ 1.5	NS
Systolic blood pressure (mmHg)	122 $\pm$ 19	117 $\pm$ 12	NS
Diastolic blood pressure (mmHg)	77 $\pm$ 13	78 $\pm$ 6	NS
Glucose (mg/dl)	99 $\pm$ 9	108 $\pm$ 7	0.042
Insulin ( $\mu$ U/ml)	8.0 $\pm$ 5.1	9.0 $\pm$ 2.6	NS
HOMA-IR (-)	2.0 $\pm$ 1.3	2.3 $\pm$ 0.6	NS
Leptin (ng/ml)	3.9 $\pm$ 1.9	4.0 $\pm$ 0.5	NS
Total cholesterol (mg/dl)	206 $\pm$ 29	208 $\pm$ 10	NS
Triglycerides (mg/dl)	143 $\pm$ 113	221 $\pm$ 112	0.06
HDL-cholesterol (mg/dl)	55 $\pm$ 15	43 $\pm$ 7	0.07
LDL-cholesterol (mg/dl)	123 $\pm$ 30	121 $\pm$ 25	NS
Uric acid (mg/dl)	6.3 $\pm$ 1.4	6.8 $\pm$ 1.3	NS

平均 $\pm$ 標準偏差。NS：有意差なし (P>0.1)。\* Mann-Whitney U test.  
(Ishii T et al : Metabolism 49 : 1616-1618, 2000<sup>12)</sup>の Table 2 より許可を得て転載)

が有意に高値であった (P=0.010)。また、血清レプチンとトリグリセライド値もこの群で高値傾向にあったが、統計学的有意差には至らなかった。

高血糖群においては、FABP2のThr/Thr変異とThrアレルの頻度は、40から65歳までのコントロール群 (FPG<110mg/dl) と比し有意な差は認めなかった (第1表)。また、各種代謝指標においても、この3群間で有意差は認められなかった。

## 2. TNF- $\alpha$ 遺伝子 G-308A 多型

TNF- $\alpha$  遺伝子のプロモーター領域である -308位がGからAに変異したものは、TNF2アレルと呼ばれている<sup>13)</sup>。今回の検討では、TNF2アレルのホモ変異は認められなかったため、本研究の対象をTNF1のホモ (正常型) とTNF2のヘテロ変異の2群に分けた。また、本研究でのゲノタイプの頻度は、すべてHardy-Weinbergの式に合致していた。



第10表 42~78歳の男性2型糖尿病患者71名における、TNF- $\alpha$ 遺伝子プロモーター領域G-308A多型と臨床指標、代謝指標との関係

TNF- $\alpha$ genotype	TNF genotype		P*
	TNF1 (Normozygote)	TNF2 (Heterozygote)	
n (%)	69 (97.2)	2 (2.8)	
Age (years)	58.8 $\pm$ 7.0	57.5 $\pm$ 2.1	NS
Duration of diabetes (years)	7.8 $\pm$ 7.2	3.0 $\pm$ 2.8	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.8 $\pm$ 3.2	26.0 $\pm$ 3.2	NS
Systolic blood pressure (mmHg)	133 $\pm$ 21	121 $\pm$ 24	NS
Diastolic blood pressure (mmHg)	76 $\pm$ 11	75 $\pm$ 18	NS
Glucose (mg/dl)	155 $\pm$ 45	144 $\pm$ 25	NS
HbA <sub>1c</sub> (%)	7.8 $\pm$ 7.2	8.1 $\pm$ 2.6	NS
Total cholesterol (mg/dl)	193 $\pm$ 32	228 $\pm$ 64	NS
Triglycerides (mg/dl)	163 $\pm$ 103	116 $\pm$ 10	NS
HDL-cholesterol (mg/dl)	45 $\pm$ 11	34 $\pm$ 1	0.10
LDL-cholesterol (mg/dl)	127 $\pm$ 29	152 $\pm$ 20	NS
Free fatty acids (mEq/l)	0.51 $\pm$ 0.23	0.38 $\pm$ 0.35	NS
Uric acid (mg/dl)	5.7 $\pm$ 1.6	5.3 $\pm$ 2.1	NS

平均 $\pm$ 標準偏差。NS：有意差なし (P>0.1)。\*Mann-Whitney U test.  
(Ishii T et al : Metabolism 49 : 1616-1618, 2000<sup>12)</sup>の Table 3 より許可を得て転載)

第11表 中高年男性246名における、LDL受容体遺伝子C1773T多型と臨床指標、代謝指標との関係

	LDL-R Genotype		P*
	CC	CT+TT	
n (%)	185 (75.2%)	56+5 (24.8%)	
Age (years)	52.5 $\pm$ 7.1	53.6 $\pm$ 7.2	NS
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23.5 $\pm$ 2.7	23.1 $\pm$ 2.4	NS
Systolic blood pressure (mmHg)	124 $\pm$ 19	121 $\pm$ 19	NS
Diastolic blood pressure (mmHg)	78 $\pm$ 12	77 $\pm$ 13	NS
Heart rate (/min)	75 $\pm$ 13	77 $\pm$ 16	NS
Glucose (mg/dl)	104 $\pm$ 14	101 $\pm$ 14	NS
Insulin ( $\mu$ U/ml)	8.4 $\pm$ 5.0	7.7 $\pm$ 5.5	NS
HOMA-IR (-)	2.2 $\pm$ 1.4	2.0 $\pm$ 1.7	NS
Leptin (ng/ml)	3.8 $\pm$ 1.8	3.6 $\pm$ 1.6	NS
Total cholesterol (mg/dl)	203 $\pm$ 29	213 $\pm$ 27	0.006
Triglycerides (mg/dl)	147 $\pm$ 138	145 $\pm$ 73	NS
HDL cholesterol (mg/dl)	54 $\pm$ 15	54 $\pm$ 15	NS
LDL cholesterol (mg/dl)	120 $\pm$ 29	131 $\pm$ 29	0.015
Uric acid (mg/dl)	6.3 $\pm$ 1.4	6.3 $\pm$ 1.3	NS

平均 $\pm$ 標準偏差。NS：有意差なし (P>0.1)。\*Mann-Whitney U test.

第8表に示したように、21~29歳の若年者では4名がTNF2アレルのヘテロ変異であった(3.3%)。このTNF1ホモとTNF2ヘテロの2群間において、各種代謝指標に有意差は認められなかった。

45~65歳の中高年者では、TNF2ヘテロ変異の頻度が2.8%であり、空腹時血糖値がTNF2の方でTNF1に比し有意に高値であった(108 $\pm$ 7 vs. 99 $\pm$ 9 mg/dl, P=0.042)。また、血中トリグリセライド値とHOMA-IRはTNF2の方で高値傾向にあり(各々P=0.06, 0.20)、一方HDLコレステロール値は低値傾向であっ

た(P=0.07)、統計学的な有意差は認められなかった。血中レプチン濃度を含むその他の指標では、この2群間で有意差は認めなかった(第9表)。

2型糖尿病患者においても、TNF2ヘテロ変異の頻度は2.8%であり、同じ年齢層の健常者(FPG<110 mg/dl)と比較しても、有意な差は認められなかった。またTNF1ホモとTNF2ヘテロの2群間において各種代謝指標に関して有意差は認められなかった。HDLコレステロールがTNF2群で低値傾向にあったが、統計学的な有意差には至らなかった(第10表)。

第12表 中高年男性246名における、LDL受容体遺伝子C1773T多型と高LDLコレステロール血症との関係

	対象者		
	高脂血症群	正脂血症群	
Genotype			
CC	19 (59.4%)	166 (77.6%)	$\chi^2=4.94$
CT+TT	13 (40.6%)	48 (22.4%)	P=0.034
Total (n)	32	214	
Allele			
C	48 (75.0%)	378 (88.3%)	$\chi^2=8.50$
T	16 (25.0%)	50 (11.7%)	P=0.004

数字は検査対象者数。( )内は比率。

### 3. LDL-R 遺伝子 C1773T 多型

対象者を、LDL-R 遺伝子の C1773T 多型によって 3 群に分けた。CC, CT, TT のゲノタイプの頻度は、各々 75.2, 22.8, 2.0% であった (第 11 表)。本研究でのゲノタイプの頻度は、すべて Hardy-Weinberg の式に合致していた。

血中総コレステロールと LDL コレステロールの両者とも、CC 群より、CT+TT 群の方が有意に高値を示していた (各々 P=0.006, 0.015)。ただし、この検討の中には、18 名 HMG-CoA 還元酵素阻害薬の投与を受けている対象者も含まれている。

そこで第 12 表に示すように、高脂血症群と正常群との間でゲノタイプの頻度を検討したところ、有意差が認められた (P=0.034)。また、1773T アリール頻度が、高脂血症群の方が正脂血症群よりも有意に高値であった (P=0.004)。

## 考 察

本研究では、インスリン抵抗性の発生に何らかの関与が想定されている FABP2 遺伝子、 $\beta$ 3AR 遺伝子、TNF- $\alpha$  遺伝子および LDL-R 遺伝子の多型と、インスリン抵抗性を基盤として発症すると考えられる肥満や糖・脂質代謝異常、高血圧との関係を、広範な年齢層の日本人男性を対象に検討した。以下に、各遺伝子多型との関係について考察する。

### 1. $\beta$ 3AR 遺伝子の Trp64Arg 多型に関して

Yoshida ら<sup>25)</sup>は、この多型を持った日本人肥満女性では基礎代謝率がより低く、ヘテロ変異であっても食事、運動療法の効果が少ないことを示した。同多型と 2 型糖尿病との関連が認められたとする報告もあれば<sup>26)</sup>、

明らかな関連を認めなかったとする報告も多い<sup>27,28)</sup>。Kawamura ら<sup>29)</sup>はこの多型が、耐糖能異常を有した日系アメリカ人の血中インスリン濃度や HOMA-IR と関連のあることを報告している。本研究では、血中インスリン濃度や HOMA-IR が、 $\beta$ 3AR の Arg/Arg 型を有した 21~39 歳の中年男性において高値傾向にあった。それ以外の群では、この多型はどの代謝指標とも統計学的な有意差は認められなかった。この多型がインスリン抵抗性を惹起する機序についてはいまだ明らかとなっていないが、細胞内のサイクリック AMP 濃度を低下させる機序が考えられている<sup>30)</sup>。これにより、エネルギー産生と脂肪分解の減少をきたし、内臓脂肪蓄積とインスリン抵抗性の増悪を引き起こすものと考えられる<sup>26,31)</sup>。しかし、メタ分析<sup>32)</sup>を含む他の報告<sup>25,26,28)</sup>とは違い、我々の結果では BMI の差は認められなかった。Mitchell ら<sup>33)</sup>は、470 人のメキシコ-アメリカ人において BMI に影響を及ぼす遺伝子座位が  $\beta$ 3AR の領域にあることを報告している。

日本人の集団では、このアリール頻度は比較的高く、この多型と肥満やインスリン抵抗性、内臓脂肪蓄積との関連も示唆されている<sup>28,31)</sup>。我々の結果では否定的であったが、今後、この多型と内臓脂肪面積およびウエスト周囲径との関連を検討することが必要と考えられる。

### 2. FABP2 遺伝子の Ala54Thr 多型に関して

ピマインディアン (0.29) に比して、本邦における FABP2 の Thr54 アリール頻度は、比較的高く、Yamada らの報告<sup>34)</sup>では 0.34、本研究の 3 群では 0.37 から 0.40 というアリール頻度であった。本研究では 40~65 歳の正常血糖群の男性において、FABP2 の Thr/Thr ホモ変異群で空腹時血糖が有意に高値であった。この FABP2 遺伝子の Ala54Thr 多型が、内臓脂肪蓄積を引き起こすことを Yamada ら<sup>34)</sup>が報告しており、我々はこの変異によってインスリン抵抗性が増大し、その結果として空腹時血糖値の上昇を招いたと推測している。しかし本研究では、Baier らのピマインディアンにおける報告<sup>5)</sup>と異なり、FABP2 遺伝子のゲノタイプ間で、血中インスリン濃度や HOMA-IR には有意差は認められなかった。さらに、中高年男性の高血糖群でもゲノタイプ間で各種指標に有意差を認めるものはなかった。これは、本検討におけるインスリン抵抗性の指標に、最も信頼のおけるグルコースクランプ法を用いず、その数式モデルである HOMA-IR を使用したことが、予測に反した結果をもたらしたものとも考えられる。しかし全例にグルコースクランプ法を施行することは困難であ

り、また HOMA-IR とグルコースクランプ法では、空腹時血糖 140mg/dl までには有意に相関しているとされる<sup>23)</sup>。そこで、信頼性の高い HOMA-IR を得るためには、空腹時血糖、インスリンともに基底状態にある厳しいサンプリング条件として、完全空腹時採血(14~18時間の絶食)を徹底することが必要と考えられる。

### 3. TNF- $\alpha$ 遺伝子の G-308A 多型に関して

肥満者の脂肪細胞では、TNF- $\alpha$  の発現量と蛋白合成が亢進しており<sup>12)</sup>、最近では肥満と2型糖尿病とを結び付ける重要な因子として、この TNF- $\alpha$  の役割が注目されている<sup>35)</sup>。TNF- $\alpha$  がインスリン抵抗性を惹起する機序は、以下のように考えられている。TNF- $\alpha$  は TNF- $\alpha$  の受容体に結合し、インスリン受容体基質のセリン残基をリン酸化し、それにひき続きインスリン受容体のチロシンキナーゼの活性を阻害する<sup>36)</sup>。これにより、インスリン受容体以降のシグナル伝達経路が阻害され、糖輸送担体の移動や最終的な糖取り込みを減少させる。

TNF- $\alpha$  遺伝子のプロモーター領域である-308位のGからAへの変異は、TNF2 アリールと呼ばれ<sup>13)</sup>、白人における検討ではこの変異がインスリン抵抗性を惹起し、体脂肪率や血中レプチン濃度を上昇させることが報告された<sup>15)</sup>。さらに、この変異が存在すると、TNF- $\alpha$  遺伝子の転写活性が高められることが報告されている<sup>37)</sup>。しかし、この G-308A 多型に関して、肥満やインスリン抵抗性に及ぼす影響をみた欧米人での大規模研究では否定的な結果が得られている<sup>16)</sup>。

本研究では、日本人での TNF2 アリールの頻度は 1.4%と欧米人に比し低かったが、日本人中高年男性の空腹時血糖が TNF2 群で有意に高値であった。一方、2型糖尿病患者の集団では TNF1 と TNF2 の2群間で、どの代謝指標においても明らかな有意差は認められなかった。この結果より、この多型は、糖尿病が進展した状態ではなく、正常血糖から耐糖能異常に至るまでのインスリン抵抗性増大に、より関与していることが考えられる。また本研究では、TNF1 と TNF2 の2群間で、ノンパラメトリックの Mann-Whitney の U 検定により有意差を認めたが、TNF2 群は5例と少なかったため、第1種過誤をきたしている可能性も否定はできない。そこで今後は、より大規模な集団での検討や、糖尿病発症前の耐糖能異常者への介入、さらに内臓脂肪蓄積の指標との関連の検討が必要と思われる。

### 4. LDL-R 遺伝子の C1773T 多型に関して

LDL コレステロールは LDL 受容体を介して細胞に取

り込まれ、肝細胞やその他の末梢組織で利用される。LDL 受容体の数あるいは活性の減少が、血中 LDL コレステロール濃度の増加につながり得る。その数が減少する機序は、コレステロールや飽和脂肪酸の食餌からの過剰摂取によって、コレステロールプールが増加することが関与すると考えられている。一方、後者の機序、すなわち LDL 受容体の活性が低下する機序は、LDL 受容体遺伝子の変異がそれ自身の変形を来すことにより引き起こされるものと推測される。本検討では、血中総コレステロールと LDL コレステロール濃度の両者が、CC 群よりも CT+TT 群で有意に高いことが示された。さらに 1773T アリール頻度もまた、高脂血症群の方が正脂血症群に比し有意に高値であった。このことより、日本人においても 1773T アリールが血中 LDL-C 濃度の上昇を引き起こしていると考えられる。Boright ら<sup>38)</sup>は以前、高脂血症のない白人の集団であっても、血中 LDL-C 濃度が CT+TT 群で有意に高いことを報告している。しかし、日本人を対象とした本検討では、白人の検討とは逆に、1773C アリール頻度の方が T アリール頻度よりはるかに多く認められた。Boright らの報告<sup>38)</sup>で示された T アリールの頻度(0.56)は、我々の検討で得られた頻度(0.12)の 4.7 倍であった。もし、この T アリールが LDL コレステロール濃度の上昇を引き起こしているとするれば、白人において虚血性心疾患の罹患が非常に高いことは、この T アリール頻度が高いという遺伝因子と、また一方、この集団では食事からの脂肪摂取が多いという環境因子の両者が関与している可能性が考えられる。日本人では、T アリールの頻度が白人に比べるとかなり低い。この遺伝因子によって引き起こされた高 LDL コレステロール血症が、虚血性心疾患の進展を規定する冠危険因子になっている可能性がある。また最近では、脂質代謝異常のみが注目されてきた LDL-R ノックアウトマウスにおいて、高血圧も発症することが報告されている<sup>39)</sup>。これは、LDL-R が脂質代謝異常のみならずインスリン抵抗性や血圧調節にも関与していることを示唆するものである。また、インスリン受容体遺伝子は LDL-R 遺伝子の存在する染色体 19p13.2 の領域に位置しているため、連鎖不平衡によりインスリン受容体の遺伝子多型と LDL-R の遺伝子多型が関連している可能性も考えられ、興味深い。すなわち、LDL-R の C1773T 多型は、LDL-R 遺伝子自身の他の部位やインスリン受容体遺伝子との連鎖不平衡により、インスリン抵抗性や本態性高血圧<sup>40)</sup>と関連している可能性が考えられる。

今後、LDL-R 遺伝子多型の重要性を明らかにするた

めに、他の様々なアレルと組み合わせたり、異なった年齢層や性別、人種でのさらなる検討が重要と思われる。以上をまとめると、LDL-RのC1773T多型は、血中LDLコレステロールおよび総コレステロール濃度の上昇と関連があることが示唆された。また、Tアレル頻度は白人に比して本邦では0.12と低かったが、それが中高年日本人男性において高脂血症を引き起こしている可能性が示唆された。

以上より、インスリン抵抗性および糖・脂質代謝異常に関与する遺伝子多型は2型糖尿病や高血圧、高脂血症を含む代謝症候群の危険因子(予知マーカー)となる可能性があり、今後さらに検討していくことが必要であると考えられる。

## 総括

$\beta_3$ -アドレナリン受容体( $\beta_3$ AR)遺伝子のTrp64Arg多型、小腸脂肪酸結合蛋白(FABP2)遺伝子のAla54Thr多型、tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )遺伝子のG-308A多型、および低比重リポ蛋白受容体(LDL-R)遺伝子のC1773T多型が、BMI、血圧、血糖、脂質、血清インスリンやレプチン濃度に及ぼす影響を明らかにするため、種々の年齢層の日本人男性を対象にこれらの関係を検討し、以下の結果を得た。

1.  $\beta_3$ AR遺伝子Trp64Arg多型とFABP2遺伝子Ala54Thr多型はともに、若年、中高年男性において2型糖尿病や高脂血症との関連は認められなかったが、中高年男性においてFABP2のThr/Thrゲノタイプを持つ者は、空腹時血糖の有意な高値が認められた<sup>41)</sup>。

2. TNF- $\alpha$ 遺伝子G-308A多型は、若年、中高年、および糖尿病患者のどの群においても、TNF1とTNF2の2群間で、肥満、糖尿病、高血圧、高脂血症のどの観点においても、明らかな有意差は認められなかった。ただし、中高年男性で空腹時血糖のみ有意に高値であり、おそらくインスリン抵抗性の増大を介したものと考えられる<sup>42)</sup>。

3. LDL-R遺伝子のC1773T多型は、血中LDLコレステロールおよび総コレステロール濃度の上昇と関連があることが示唆された。また、Tアレル頻度は白人に比して本邦では0.12と低かったが、それが中高年日本人男性において高脂血症を引き起こしている可能性が示唆された。

以上より、インスリン抵抗性および糖・脂質代謝異常に関与する遺伝子多型は2型糖尿病や高血圧、高脂血症を含む代謝症候群の危険因子(予知マーカー)となる

可能性があり、今後さらに検討していくことが必要であると考えられる。

本稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました慶應義塾大学医学部内科学教室猿田卓男教授に深謝いたします。また、本研究を直接御指導下さり、論文の御校閲をいただきました慶應義塾大学保健管理センター広瀬寛講師に感謝いたします。

本研究の一部は、第42回日本糖尿病学会年次学術集会(1999年、横浜)、第43回日本糖尿病学会年次学術集会(2000年、名古屋)および第61回米国糖尿病学会(2001年、フィラデルフィア)において報告した。

## 文 献

- 1) Reaven GM: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595-1607, 1988
- 2) Kaplan NM: The deadly quartet: upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia and hypertension. *Arch Intern Med* 149: 1514-1520, 1989
- 3) DeFronzo RA, Ferrannini E: Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 14: 173-194, 1991
- 4) Lowe JB, Sacchettini JC, Laposata M, McQuillan JJ, Gordon JI: Expression of rat intestinal fatty acid-binding protein in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 262: 5931-5937, 1987
- 5) Baier LJ, Sacchettini JC, Knowler WC, Eads J, Paolisso G, Tataranni PA, Mochizuki H, Bennett PH, Bogardus C, Prochazka M: An amino acid substitution in the human intestinal fatty acid binding protein is associated with increased fatty acid binding, increased fat oxidation, and insulin resistance. *J Clin Invest* 95: 1281-1287, 1995
- 6) Emorine LJ, Malluro S, Briand-Sutren MM, Patey G, Tate K, Delavie-Klutchko C, Strosberg AD: Molecular characterization of the human  $\beta_3$ -adrenergic receptor. *Science* 245: 1118-1126, 1989
- 7) Enocksson SE, Shimizu M, Lönnqvist F, Nordenström J, Arner P: Demonstration of an *in vivo* functional  $\beta_3$ -adrenoceptor in man. *J Clin Invest* 95: 2239-2245, 1995
- 8) Walston J, Silver K, Bogardus C, Knowler WC, Celi FS, Austin S, Manning B, Strosberg AD, Stern MP, Raben N, Sorkin JD, Roth J, Shuldiner AR: Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the  $\beta_3$ -adrenergic-receptor gene. *New Engl J Med* 333: 343-347, 1995
- 9) Widén E, Lehto M, Kanninen T, Walston J, Shuldiner AR, Groop LC: Association of a polymorphism in

- the  $\beta_3$ -adrenergic-receptor gene with features of insulin resistance syndrome in Finns. *New Engl J Med* 333 : 348-351, 1995
- 10) Clément K, Vaisse C, Manning BSJ, Basdevant A, Guy-Grand B, Ruiz J, Silver KD, Shuldiner AR, Froguel P, Strosberg AD : Genetic variation in the  $\beta_3$ -adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *New Engl J Med* 333 : 352-354, 1995
  - 11) Urhammer SA, Clausen JO, Hansen T, Pedersen O : Insulin sensitivity and body weight changes in young white carriers of the codon 64 amino acid polymorphism of the  $\beta_3$ -adrenergic receptor gene. *Diabetes* 45 : 1115-1120, 1996
  - 12) Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM : Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 95 : 2409-2415, 1995
  - 13) Wilson AG, de Vries N, Pociot F, di Giovine FS, van der Putte LB, Duff GW : An allelic polymorphism within the human tumor necrosis factor alpha promoter region is strongly associated with HLA A1, B8, and DR3 alleles. *J Exp Med* 177 : 557-560, 1993
  - 14) D'Alfonso S, Richiardi PM : A polymorphic variation in a putative regulation box of the TNFA promoter region. *Immunogenetics* 39 : 150-154, 1994
  - 15) Fernandez-Real JM, Gutierrez C, Ricart W, Casamitjana R, Fernandez-Castaner, Vendrell J, Richart C, Soler J : The TNF- $\alpha$  gene Nco I polymorphism influences the relationship among insulin resistance, percent body fat, and increased serum leptin levels. *Diabetes* 46 : 1468-1472, 1997
  - 16) Walston J, Seibert M, Yen CJ, Cheskin LJ, Andersen RE : Tumor necrosis factor- $\alpha$ -238 and -308 polymorphisms do not associated with traits related to obesity and insulin resistance. *Diabetes* 48 : 2096-2098, 1999
  - 17) Brown MS, Goldstein JL : Receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 232 : 34-47, 1986
  - 18) Hobbs HH, Russell DW, Brown MS, Goldstein JL : The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia : mutational analysis of a membrane protein. *Annu Rev Genet* 24 : 133-170, 1990
  - 19) Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL : Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. *Hum Mutat* 1 : 445-466, 1992
  - 20) Dammerman M, Breslow JL : Genetic basis of lipoprotein disorders. *Circulation* 91 : 505-512, 1995
  - 21) Hirose H, Saito I, Kawai T, Nakamura K, Maruyama H, Saruta T : Serum leptin level, possible association with haematopoiesis in adolescents, independent of body mass index and serum insulin. *Clin Sci* 94 : 633-636, 1998
  - 22) Hirose H, Saito I, Tsujioka M, Mori M, Kawabe H, Saruta T : The obese gene product, leptin : possible role in obesity-related hypertension in adolescents. *J Hypertens* 16 : 2007-2012, 1998
  - 23) Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC : Homeostasis model assessment : insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28 : 412-419, 1985
  - 24) Rudenski AS, Matthews DR, Levy JC, Turner RC : Understanding 'insulin resistance' : both glucose resistance and insulin resistance are required to model human diabetes. *Metabolism* 40 : 908-917, 1991
  - 25) Yoshida T, Sakane N, Umekawa T, Sakai M, Takahashi T, Kondo M : Mutation of  $\beta_3$ -adrenergic-receptor gene and response to treatment of obesity. *Lancet* 346 : 1433-1434, 1995
  - 26) Fujisawa T, Ikegami H, Yamato E, Takekawa K, Nakagawa Y, Hamada Y, Oga T, Ueda H, Shintani M, Fukuda M, Ogihara T : Association of Trp64Arg mutation of the  $\beta_3$ -adrenergic-receptor with NIDDM and body weight gain. *Diabetologia* 39 : 349-352, 1996
  - 27) Li LS, Lonnqvist F, Luthmann H, Arner P : Phenotypic characterization of the Trp64Arg polymorphism in the  $\beta_3$ -adrenergic receptor gene in normal weight and obese subjects. *Diabetologia* 39 : 857-860, 1996
  - 28) Kadowaki H, Yasuda K, Iwamoto K, Otabe S, Shimokawa K, Silver K, Walston J, Yoshinaga H, Kosaka K, Yamada N, Saito Y, Hagura R, Akanuma Y, Shuldiner A, Yazaki Y, Kadowaki T : A mutation in the  $\beta_3$ -adrenergic receptor gene is associated with obesity and hyperinsulinemia in Japanese subjects. *Biochem Biophys Res Commun* 215 : 555-560, 1995
  - 29) Kawamura T, Egusa G, Okubo M, Imazu M, Yamakido M : Association of  $\beta_3$ -adrenergic receptor gene polymorphism with insulin resistance in Japanese-American men. *Metabolism* 48 : 1367-1370, 1999
  - 30) Pietri-Rouxel F, St John Manning B, Gros J, Strosberg AD : The biochemical effect of the naturally occurring Trp64  $\rightarrow$  Arg mutation on human  $\beta_3$ -adrenoceptor activity. *Eur J Biochem* 247 : 1174-1179, 1997
  - 31) Kim-Motoyama H, Yasuda K, Yamaguchi T, Yamada N, Katakura T, Shuldiner AR, Akanuma Y, Ohashi Y, Yazaki Y, Kadowaki T : A mutation of the  $\beta_3$ -adrenergic receptor is associated with visceral obesity but decreased serum triglyceride. *Diabetologia* 40 : 469-472, 1997
  - 32) Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, Ogihara T : Meta-analysis of the association of Trp64Arg polymorphism of  $\beta_3$ -adrenergic receptor gene with body mass index. *J Clin Endocrinol Metab* 83 : 2441-2444, 1998
  - 33) Mitchell BD, Cole SA, Comuzzie AG, Almasy L, Blangero J, MacCluer JW, Hixson JE : A quantitative trait locus influencing BMI maps to the region of the  $\beta_3$  adrenergic receptor. *Diabetes* 48 : 1863-1867,

- 1999
- 34) Yamada K, Yuan X, Ishiyama S, Koyama K, Ichikawa F, Koyanagi A, Koyama W, Nonaka K : Association between Ala54Thr substitution of the fatty acid-binding protein 2 gene with insulin resistance and intra-abdominal fat thickness in Japanese men. *Diabetologia* 40 : 706-710, 1997
- 35) Hotamisligil GS, Spiegelman BM : Tumor necrosis factor $\alpha$  : a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 43 : 1271-1278, 1994
- 36) Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM : IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- $\alpha$ - and obesity-induced insulin resistance. *Science* 271 : 665-668, 1996
- 37) Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW : Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 : 3195-3199, 1997
- 38) Boright AP, Connelly PW, Brunt JH, Morgan K, Hegele RA : Association and linkage of LDLR gene variation with variation in plasma low density lipoprotein cholesterol. *J Hum Genet* 43 : 153-159, 1998
- 39) Merat S, Casanada F, Sutphin M, Palinski W, Reaven PD : Western-type diets induce insulin resistance and hyperinsulinemia in LDL receptor-deficient mice but do not increase aortic atherosclerosis compared with normoinsulinemic mice in which similar plasma cholesterol levels are achieved by a fructose-rich diet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19 : 1223-1230, 1999
- 40) Fu Y, Katsuya T, Higaki J, Asai T, Fukuda M, Takiuchi S, Hatanaka Y, Rakugi H, Ogihara T : A common mutation of low-density lipoprotein receptor gene is associated with essential hypertension among Japanese. *J Hum Hypertens* 15 : 125-130, 2001
- 41) Ishii T, Hirose H, Kawai T, Hayashi K, Maruyama H, Saito I, Saruta T : Effects of intestinal fatty acid-binding protein gene Ala54Thr polymorphism and  $\beta$ -adrenergic receptor gene Trp64Arg polymorphism on insulin resistance and fasting plasma glucose in young to older Japanese men. *Metabolism* 50 : 1301-1307, 2001
- 42) Ishii T, Hirose H, Saito I, Nishikai K, Maruyama H, Saruta T : Tumor necrosis factor alpha gene G-308A polymorphism, insulin resistance, and fasting plasma glucose in young, older, and diabetic Japanese men. *Metabolism* 49 : 1616-1618, 2000