

Title	インスリン抵抗性およびインスリン分泌能に関連する血中可溶性レプチン受容体および脂肪酸受容体遺伝子多型の検討
Sub Title	
Author	小川, 健夫(Ogawa, Takeo)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.T139- T154
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	学位論文
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050601-0139

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インスリン分泌能に関連する 血中可溶性レプチン受容体および脂肪酸受容体遺伝子多型の検討

慶應義塾大学医学部内科学教室

(指導：猿田享男教授)

お がわ たけ お
小 川 健 夫

(平成 16 年 11 月 22 日受付)

Key Words : insulin resistance, insulin secretion, gene polymorphism, fatty acid, leptin

糖尿病とはインスリン作用不足による慢性の高血糖状態を主徴とする代謝疾患群である。インスリン分泌低下またはインスリン抵抗性は、インスリン作用不足をきたす。2型糖尿病は、インスリン分泌低下やインスリン抵抗性をきたす複数の遺伝素因に、過食、運動不足および肥満などの環境因子が加わり発症すると考えられている¹⁾。以前より肥満とインスリン抵抗性を基盤として耐糖能異常、高血圧症、高脂血症などが重複する病態は動脈硬化性疾患を高率に引き起こすことが知られていたが、近年メタボリックシンドロームという概念で世界的に注目を集めている²⁾。最近の研究により、脂肪組織は単なるエネルギー貯蔵臓器ではなく、さまざまな生理活性物質(アディポサイトカイン)を分泌する人体最大の内分泌臓器と考えられるようになった。

肥満 (*ob*) 遺伝子の産物であるレプチンは、1994 年に発見されたアディポサイトカインであり、脂肪組織から産生され循環血中へ分泌される³⁾。レプチンは摂食抑制とエネルギー消費亢進により、体重の調節に重要な役割を果たしている⁴⁾。ヒトにおいて血中レプチン濃度は肥満者で上昇し⁵⁾、また体脂肪量と正の相関を示しており、このことは肥満の目印がレプチン欠乏ではなくレプチン抵抗性であることを示唆している。レプチンは、レプチン受容体へ結合することにより主に視床下部で作用するが⁶⁾、他の組織でも作用する。レプチン受容体にはいくつかのアイソフォームがあり、可溶性のレプチン受容体 (soluble leptin receptor; 以下 sOB-R と略す) も示された⁷⁾。sOB-R は細胞外のリガンド結合ドメインのみから成り、膜貫通領域およびシグナル伝達に必要な細胞内ドメインを欠いている。げっ歯類では sOB-R は

主に選択的スプライシングによって産生されるが⁷⁾、ヒトでは sOB-R をコードする mRNA がなく、sOB-R は膜結合型受容体 (OB-Ra および OB-Rb) の細胞外領域がメタロプロテアーゼにより蛋白かい離することによって産生されることが示された⁸⁾。当初ヒト皮下脂肪組織からの sOB-R 産生が報告されるも脂肪細胞からの分泌は証明されず⁹⁾、最近のげっ歯類での報告では主に肝臓からの sOB-R 産生が示唆されている¹⁰⁾。

Sinha らは、レプチン結合蛋白の存在を証明し、やせの者ではレプチンの大部分が結合型として循環しており、一方肥満者ではレプチンの大部分が遊離型として循環していると報告した¹¹⁾。Landt らは、脳脊髄液中には遊離型レプチンのみが検出されることを報告し、それが生物学的に活性型であることを示唆した¹²⁾。また Lammert らは、レプチン結合活性が sOB-R のレベルと一致しており、sOB-R がヒト血中において主要なレプチン結合蛋白であることを示した¹³⁾。ヒト sOB-R の測定系の確立後、sOB-R 濃度と body mass index (以下 BMI と略す) およびレプチン濃度との負の相関はすでに報告されている^{14~18)}。また、レプチン濃度とは逆に、sOB-R 濃度は減量の後に上昇した^{14), 19), 20)}。sOB-R 濃度とインスリン濃度との間には明らかな相関がないとする報告がされているが^{16), 21)}、インスリン抵抗性や糖・脂質代謝との関連に関する報告は今までにほとんどない。

また、ヒトレプチン受容体 (以下 LEPR と略す) 遺伝子の多型が 1997 年以降、異なる人種集団において報告されてきた^{22~25)}。日本人で七つの多型が同定され、うちアミノ酸変化を来すものは五つであり、その中でも比較的アリアル頻度の高いものは 109 番目のアミノ酸が

リジン (以下 Lys と略す) からアルギニン (以下 Arg と略す) に置換した多型 (Lys109Arg 多型) および 223 番目のアミノ酸がグルタミン (以下 Gln と略す) から Arg に置換した多型 (Gln223Arg 多型) であった²³⁾。この二つの多型はいずれも LEPR の細胞外領域のエクソンに存在する。主に白人において、Lys109Arg および Gln223Arg 多型と BMI, 体脂肪量, 血中レプチン濃度およびレプチン結合活性との関連が報告されているが^{24), 25)}, やはりインスリン抵抗性や糖・脂質代謝との関連は不明である。そこで著者は、血中 sOB-R 濃度および LEPR 遺伝子多型と BMI, 血圧, 血糖, 血清脂質, 血清インスリン濃度, 血中レプチンおよびアディポネクチン濃度との関係を、日本人健常者および 2 型糖尿病患者を対象に検討した。

近年わが国では、食事の脂肪摂取の割合が欧米並みに増加していることと比例して、肥満や糖尿病が激増していることは注目に値する。脂肪酸は膵 β 細胞に多彩な影響を及ぼすことが知られており、短期的にはグルコース刺激に対するインスリン分泌 (glucose-stimulated insulin secretion ; 以下 GSIS と略す) を増強するが²⁶⁾, 長期的には膵 β 細胞機能に負の影響を及ぼすと報告されている²⁷⁻²⁹⁾。脂肪酸の影響はその細胞内代謝によって調節されると考えられてきたが、脂肪酸が G-protein coupled receptor 40 (以下 GPR40 と略す) を活性化するという報告が最近相次いでなされた³⁰⁻³²⁾。GPR40 は膵 β 細胞に特異的に発現しており、中鎖から長鎖脂肪酸は GPR40 を活性化することにより GSIS を増強することが示された。最近 Haga らは、GPR40 遺伝子の 211 番目のアミノ酸が Arg からヒスチジン (以下 His と略す) に置換した多型を同定したが³³⁾, この多型に関する臨床研究は今まで報告されていない。そこで著者は、GPR40 遺伝子 Arg211His 多型と血清インスリン濃度および血清遊離脂肪酸 (free fatty acid ; 以下 FFA と略す) 濃度を含む各種糖・脂質代謝指標との関係に関しても、日本人健常男性を対象に検討した。

対 象

1. 血中可溶性レプチン受容体濃度の検討

慶應義塾大学の定期健康診断を受診した、空腹時血糖値が 110 mg/dl 未満の 30~65 歳の健常男性 198 名および健常女性 221 名を対象とした。また慶應義塾大学病院または三越診療所の内科外来に通院中の男性 2 型糖尿病患者 96 名および女性 2 型糖尿病患者 54 名を糖尿病群として検討した。

2. LEPR 遺伝子多型の検討

慶應義塾大学の定期健康診断を受診した、30~65 歳の健常男性 127 名および健常女性 90 名を対象とした。

3. GPR40 遺伝子 Arg211His 多型の検討

慶應義塾大学の定期健康診断を受診した、30~65 歳の健常男性 327 名および慶應義塾大学病院の内科外来に通院中の男性 2 型糖尿病患者 203 名を対象とした。

なお健常者の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および糖尿病・高血圧症・高脂血症の治療薬を服用している者は除外した。本研究はヘルシンキ宣言を遵守して施行し、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) 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 {総コレステロール、中性脂肪、高比重リポ蛋白-コレステロール (以下 HDL-C と略す)、低比重リポ蛋白-コレステロール、FFA} を測定した。血清インスリン濃度を enzyme immunoassay 法 (東ソー社、東京) にて測定した。基礎インスリン分泌およびインスリン抵抗性の指数は、homeostasis model assessment を用いて計算した³⁴⁾ : $HOMA-\beta = \{20 \times \text{空腹時インスリン} (\mu\text{U/ml})\} / \{\text{空腹時血糖} (\text{mmol/l}) - 3.5\}$, $HOMA-IR = \text{空腹時インスリン} \times \text{空腹時血糖} / 22.5$ 。血中レプチン濃度を radioimmunoassay 法 (Linco 社、米国ミズーリ州) にて測定した^{35), 36)}。血中アディポネクチン濃度を健常者においてのみ、熱変性過程の不要な enzyme-linked immunosorbent assay (以下 ELISA と略す) 法 (富士レビオ社、東京) にて測定した³⁷⁾。

2. ELISA 法による血中 sOB-R 濃度の測定

すべて (結合型および非結合型) の sOB-R を ELISA 法にて測定した。sOB-R 標準溶液および検体を希釈液で 3 倍に希釈し、抗レプチン受容体モノクローナル抗体を付着させた 96 ウェルマイクロタイタープレート (Biovendor 社、チェコ共和国) に添加した。1 時間室

第1表 本研究で使用したプライマーおよび TaqMan プローブ

	5'プライマー	3'プライマー	TaqMan プローブ
LEPR 遺伝子	5'-TTTCTAACTTATCCA	5'-GCTAATGCTTACCTA	Lys-アリアル特異的プローブ
Lys109Arg 多型	AAACAACCTTTCCA-3'	TTTGTGAAAAAC-3'	5'-VIC-TTGAAGGAAAGACATTTG-MGB-3'
			Arg-アリアル特異的プローブ
			5'-FAM-TTGAAGGAAGGACATTT-MGB-3'
LEPR 遺伝子	5'-TTTGAAAATCACAT	5'-ACCCATATTTATGGG	Gln-アリアル特異的プローブ
Gln223Arg 多型	CTGGTGGAGTA-3'	CTGAACCTG-3'	5'-VIC-ATTTTCCAGTCACCTCTA-MGB-3'
			Arg-アリアル特異的プローブ
			5'-FAM-TTCCGGTCACCTCT-MGB-3'
GPR40 遺伝子	5'-GCCATCACAGCCTTC	5'-CCACGTTGGAGGCGT	Arg-アリアル特異的プローブ
Arg211His 多型	TGCTAC-3'	TGTA-3'	5'-VIC-CACTGGCCCGCTC-MGB-3'
			His-アリアル特異的プローブ
			5'-FAM-ACTGGCCACTCC-MGB-3'

温で放置し、ウェルを3回洗浄し、horseradish peroxidase で標識した抗レプチン受容体モノクローナル抗体で1時間反応させた。再度ウェルを4回洗浄し、tetramethylbenzidine で5分間反応させた。0.2Mの硫酸を添加して反応を停止させ、450 nmでの吸光度を測定した。アッセイ内およびアッセイ間再現性の変動係数は、それぞれ2.6~4.7%および6.3~7.2%であった。

3. 遺伝子多型の解析

LEPR 遺伝子の Lys109Arg 多型, Gln223Arg 多型および GPR40 遺伝子の Arg211His 多型を, TaqMan polymerase chain reaction (以下 PCR と略す) 法により同定した^{38), 39)}。Universal master mix (Applied Biosystems 社, 東京) 12.5 μ l, プライマー各 22.5 pmol, プローブ各 5 μ mol, DNA 約 10~50 ng とし, 蒸留水を加えて全量で 25 μ l として反応させた。PCR 反応は, ABI prism 7700 (Applied Biosystems) を用いて, 95°C 10 分を 1 サイクルの後, 92°C 15 秒および 60°C 60 秒を 35 サイクル繰り返した。第1表に使用したプライマーおよび TaqMan プローブを示した。

4. 統計学的解析

すべてのデータは, 平均値±標準偏差として示した。血中 sOB-R 濃度のほか各種臨床・代謝指標の性差の解析にはノンパラメトリックな Mann-Whitney の U 検定を, 血中 sOB-R 濃度と各種臨床・代謝指標との関連の解析には単回帰分析および年齢と BMI を独立変数として組み込んだ重回帰分析を使用した。遺伝子多型の検討では, Hardy-Weinberg 平衡への適合の検定には χ^2 検

定を使用し, 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。健常者群と糖尿病患者群における GPR40 遺伝子多型の遺伝子型およびアリアル頻度の比較には, Fisher の直接法を使用した。GPR40 遺伝子型と血清インスリン, HOMA-IR および HOMA- β との関連は, 年齢および BMI を独立変数として組み込んだ重回帰分析により解析した。中性脂肪, インスリン, HOMA-IR, レプチン, sOB-R およびアディポネクチンは対数正規分布にしたがったため, 対数変換後に解析を行った。多重比較のための Bonferroni 補正による検討も行った。P 値 0.05 未満を統計学的に有意と解釈した。統計処理には Stat View ソフトウェア (ver 5.0J, SAS インスティテュート社, 米国ノースカロライナ州) を使用した。

結 果

1. 血中可溶性レプチン受容体濃度の検討

1) 健常者および糖尿病患者における血中 sOB-R 濃度

第2表は419名の健常者を男女に分けて, 各種臨床・代謝指標を比較したものである⁴⁰⁾。血中レプチンおよびアディポネクチン濃度は, 女性よりも男性で有意に低値であった ($P < 0.0001$)。逆に血中 sOB-R 濃度は, 女性 (22.9 ± 7.4 U/ml) よりも男性 (24.9 ± 5.8 U/ml) で有意に高値であった ($P < 0.0001$)。したがってレプチン/sOB-R 比は, 女性よりも男性で有意に低値であった ($P < 0.0001$)。第3表は150名の2型糖尿病患者を男女に分けて, 各種臨床・代謝指標を比較したものである⁴⁰⁾。

第2表 健常者419名の臨床・代謝指標

Parameter	Male (n=198)	Female (n=221)	P value*
Age (years)	44.5±9.3	41.7±9.7	0.0011
BMI (kg/m ²)	22.9±2.2	20.6±2.4	<0.0001
SBP (mmHg)	119±16	112±15	<0.0001
DBP (mmHg)	75±12	68±10	<0.0001
Glucose (mg/dl)	91±8	89±7	0.0025
Insulin (μU/ml)	4.8±2.6	4.9±2.6	NS
HOMA-IR	1.1±0.6	1.1±0.6	NS
Total cholesterol (mg/dl)	197±28	194±33	NS
Triglycerides (mg/dl)	112±70	68±37	<0.0001
HDL-cholesterol (mg/dl)	55±14	69±15	<0.0001
LDL-cholesterol (mg/dl)	123±27	112±29	<0.0001
Leptin (ng/ml)	3.9±1.8	7.3±4.1	<0.0001
Adiponectin (μg/ml)	7.2±4.4	13.4±7.2	<0.0001
sOB-R (U/ml)	24.9±5.8	22.9±7.4	<0.0001
Leptin/sOB-R	0.09±0.06	0.19±0.15	<0.0001

平均±標準偏差. NS:有意差なし (Bonferroni 補正により $P>0.0033$). *Mann-Whitney *U* 検定. SBP:収縮期血圧. DBP:拡張期血圧.

(Ogawa T et al: Metabolism 53: 879-885, 2004⁴⁰⁾の Table 1 を許可を得て転載)

第3表 糖尿病患者150名の臨床・代謝指標

Parameter	Male (n=96)	Female (n=54)	P value*
Age (years)	58.5±7.8	59.2±9.1	NS
BMI (kg/m ²)	24.4±3.6	24.0±4.1	NS
SBP (mmHg)	130±16	128±19	NS
DBP (mmHg)	80±9	76±10	NS
Glucose (mg/dl)	138±21	135±22	NS
HbA1c (%)	6.9±0.9	6.8±1.1	NS
Insulin (μU/ml)	5.8±3.5	6.5±4.0	NS
HOMA-IR	2.0±1.3	2.2±1.5	NS
Total cholesterol (mg/dl)	203±33	206±32	NS
Triglycerides (mg/dl)	137±87	109±50	NS
HDL-cholesterol (mg/dl)	52±10	59±14	0.0021
LDL-cholesterol (mg/dl)	126±31	125±31	NS
Leptin (ng/ml)	5.6±3.3	104±6.2	<0.0001
sOB-R (U/ml)	25.3±6.6	22.1±6.3	0.0013
Leptin/sOB-R	0.12±0.10	0.28±0.23	<0.0001

平均±標準偏差. NS:有意差なし (Bonferroni 補正により $P>0.0033$). *Mann-Whitney *U* 検定. SBP:収縮期血圧. DBP:拡張期血圧.

(Ogawa T et al: Metabolism 53: 879-885, 2004⁴⁰⁾の Table 2 を許可を得て転載)

第4表 健常男性198名における、血中sOB-R濃度(Log)と臨床・代謝指標との単回帰および重回帰分析

Parameter	Simple regression		Adjusted for age and BMI	
	R	P	R	P
Age (years)	0.211	0.0032	—	—
BMI (kg/m ²)	-0.381	<0.0001	—	—
SBP (mmHg)	0.012	NS	0.059	NS
DBP (mmHg)	-0.023	NS	-0.028	NS
Glucose (mg/dl)	0.058	NS	0.048	NS
Log [Insulin (μU/ml)]	-0.348	<0.0001	-0.239	0.0011
Log [HOMA-IR]	-0.326	<0.0001	-0.219	0.0027
Total cholesterol (mg/dl)	0.054	NS	-0.022	NS
Log [Triglycerides (mg/dl)]	-0.226	0.0016	-0.134	NS
HDL-cholesterol (mg/dl)	0.351	<0.0001	-0.222	0.0018
LDL-cholesterol (mg/dl)	-0.059	NS	-0.086	NS
Log [Leptin (ng/ml)]	-0.392	<0.0001	-0.258	0.0009
Log [Adiponectin (μg/ml)]	0.324	<0.0001	0.192	NS
Log [Leptin/sOB-R]	-0.683	<0.0001	-0.649	<0.0001

平均±標準偏差. NS:有意差なし (Bonferroni 補正により P>0.0036). SBP:収縮期血圧. DBP:拡張期血圧.

(Ogawa T et al: Metabolism 53: 879-885, 2004⁴⁰⁾の Table 3 を許可を得て転載)

第5表 健常女性221名における、血中sOB-R濃度(Log)と臨床・代謝指標との単回帰および重回帰分析

Parameter	Simple regression		Adjusted for age and BMI	
	R	P	R	P
Age (years)	0.150	NS	—	—
BMI (kg/m ²)	-0.401	<0.0001	—	—
SBP (mmHg)	-0.076	NS	-0.018	NS
DBP (mmHg)	0.027	NS	0.045	NS
Glucose (mg/dl)	-0.168	NS	-0.118	NS
Log [Insulin (μU/ml)]	-0.476	<0.0001	-0.363	<0.0001
Log [HOMA-IR]	-0.477	<0.0001	-0.358	<0.0001
Total cholesterol (mg/dl)	0.003	NS	-0.034	NS
Log [Triglycerides (mg/dl)]	-0.262	<0.0001	-0.201	0.0025
HDL-cholesterol (mg/dl)	0.315	<0.0001	0.224	0.0003
LDL-cholesterol (mg/dl)	-0.134	NS	-0.164	NS
Log [Leptin (ng/ml)]	-0.403	<0.0001	-0.189	NS
Log [Adiponectin (μg/ml)]	0.295	<0.0001	0.204	0.0010
Log [Leptin/sOB-R]	-0.736	<0.0001	-0.823	<0.0001

平均±標準偏差. NS:有意差なし (Bonferroni 補正により P>0.0036). SBP:収縮期血圧. DBP:拡張期血圧.

(Ogawa T et al: Metabolism 53: 879-885, 2004⁴⁰⁾の Table 4 を許可を得て転載)

第6表 健常者419名における、血中sOB-R濃度(Log)と臨床・代謝指標との単回帰および重回帰分析

Parameter	Simple regression		Adjusted for age, sex and BMI	
	R	P	R	P
Age (years)	0.193	<0.0001	—	—
BMI (kg/m ²)	-0.261	<0.0001	—	—
SBP (mmHg)	0.003	NS	0.016	NS
DBP (mmHg)	0.058	NS	0.016	NS
Glucose (mg/dl)	-0.048	NS	-0.060	NS
Log [Insulin (μU/ml)]	-0.412	<0.0001	-0.305	<0.0001
Log [HOMA-IR]	-0.402	<0.0001	-0.298	<0.0001
Total cholesterol (mg/dl)	0.028	NS	-0.029	NS
Log [Triglycerides (mg/dl)]	-0.137	NS	-0.167	0.0014
HDL-cholesterol (mg/dl)	0.204	<0.0001	0.233	<0.0001
LDL-cholesterol (mg/dl)	-0.064	NS	-0.123	NS
Log [Leptin (ng/ml)]	-0.431	<0.0001	-0.262	<0.0001
Log [Adiponectin (μg/ml)]	0.156	0.0015	0.215	<0.0001
Log [Leptin/sOB-R]	-0.708	<0.0001	-0.814	<0.0001

平均±標準偏差. NS:有意差なし (Bonferroni 補正により $P > 0.0036$). SBP:収縮期血圧. DBP:拡張期血圧.

(Ogawa T et al: Metabolism 53: 879-885, 2004⁴⁰⁾の Table 5 を許可を得て転載)

糖尿病患者でも健常者と同様に、血中レプチン濃度は女性よりも男性で有意に低値であり ($P < 0.0001$)、血中sOB-R濃度は女性よりも男性で有意に高値であった ($P = 0.0013$)。したがってレプチン/sOB-R比は、女性よりも男性で有意に低値であった ($P < 0.0001$)。

2) 健常者における血中sOB-R濃度と各種臨床・代謝指標との関連

第4表は健常男性198名における結果である⁴⁰⁾。sOB-R濃度はBMI、インスリン、HOMA-IR、中性脂肪、レプチン濃度およびレプチン/sOB-R比と有意な負の相関を示し、年齢、HDL-Cおよびアディポネクチン濃度と有意な正の相関を示した。年齢およびBMIで補正した後も、sOB-R濃度とインスリン、HOMA-IR、HDL-C、レプチン濃度およびレプチン/sOB-R比との相関は有意であった。第5表は健常女性221名における結果である⁴⁰⁾。sOB-R濃度はBMI、インスリン、HOMA-IR、中性脂肪、レプチン濃度およびレプチン/sOB-R比と有意な負の相関を示し、HDL-Cおよびアディポネクチン濃度と有意な正の相関を示した。年齢およびBMIで補正した後も、sOB-R濃度とインスリン、HOMA-IR、中性脂肪、HDL-C、アディポネクチン濃度およびレプチン/sOB-R比との相関は有意であった。第6表は419名の健常者全体における結果である⁴⁰⁾。

sOB-R濃度はBMI、インスリン、HOMA-IR、レプチン濃度およびレプチン/sOB-R比と有意な負の相関を示し、年齢、HDL-Cおよびアディポネクチン濃度と有意な正の相関を示した。年齢、性別およびBMIで補正した後、sOB-R濃度はインスリン、HOMA-IR、中性脂肪、レプチン濃度およびレプチン/sOB-R比と有意な負の相関を示し、HDL-Cおよびアディポネクチン濃度と有意な正の相関を示した。

3) 2型糖尿病患者における血中sOB-R濃度と各種臨床・代謝指標との関連

男性2型糖尿病患者96名において、sOB-R濃度はBMI ($R = -0.453$, $P < 0.0001$)、インスリン ($R = -0.512$, $P < 0.0001$)、HOMA-IR ($R = -0.483$, $P < 0.0001$)、レプチン濃度 ($R = -0.486$, $P < 0.0001$)およびレプチン/sOB-R比 ($R = -0.731$, $P < 0.0001$)と有意な負の相関を示し、HDL-C ($R = 0.439$, $P < 0.0001$)と有意な正の相関を示した。年齢およびBMIで補正した後も、sOB-R濃度とインスリン ($R = -0.402$, $P = 0.0006$)、HOMA-IR ($R = -0.357$, $P = 0.0029$)、HDL-C ($R = 0.384$, $P < 0.0001$)およびレプチン/sOB-R比 ($R = -0.861$, $P < 0.0001$)との相関は有意であった。女性2型糖尿病患者54名において、sOB-R濃度はBMI ($R = -0.644$, $P < 0.0001$)、インス

第7表 糖尿病患者 150 名における，血中 sOB-R 濃度 (Log) と臨床・代謝指標との単回帰および重回帰分析

Parameter	Simple regression		Adjusted for age, sex and BMI	
	R	P	R	P
Age (years)	0.054	NS	—	—
BMI (kg/m ²)	-0.491	<0.0001	—	—
SBP (mmHg)	-0.124	NS	-0.030	NS
DBP (mmHg)	-0.084	NS	0.026	NS
Glucose (mg/dl)	-0.017	NS	0.007	NS
Log [Insulin (μU/ml)]	-0.562	<0.0001	-0.377	<0.0001
Log [HOMA-IR]	-0.524	<0.0001	-0.336	<0.0001
Total cholesterol (mg/dl)	-0.002	NS	0.072	NS
Log [Triglycerides (mg/dl)]	-0.116	NS	-0.055	NS
HDL-cholesterol (mg/dl)	0.231	NS	0.245	0.0008
LDL-cholesterol (mg/dl)	-0.049	NS	0.008	NS
Log [Leptin (ng/ml)]	-0.639	<0.0001	-0.527	<0.0001
Log [Leptin/sOB-R]	-0.805	<0.0001	-0.970	<0.0001

平均±標準偏差。NS：有意差なし (Bonferroni 補正により $P > 0.0038$)。SBP：収縮期血圧。DBP：拡張期血圧。

リン ($R = -0.635$, $P < 0.0001$)，HOMA-IR ($R = -0.592$, $P < 0.0001$)，レプチン濃度 ($R = -0.763$, $P < 0.0001$) およびレプチン/sOB-R 比 ($R = -0.876$, $P < 0.0001$) と有意な負の相関を示したが，HDL-C とは相関を認めなかった。年齢および BMI で補正した後，sOB-R 濃度とインスリン ($R = -0.387$, $P = 0.0020$)，HOMA-IR ($R = -0.348$, $P = 0.0043$)，レプチン濃度 ($R = -0.702$, $P < 0.0001$) およびレプチン/sOB-R 比 ($R = -0.960$, $P < 0.0001$) との相関は有意であった。第7表は 150 名の糖尿病患者全体における結果である。sOB-R 濃度は BMI，インスリン，HOMA-IR，レプチン濃度およびレプチン/sOB-R 比と有意な負の相関を示した。年齢，性別および BMI で補正した後，sOB-R 濃度はインスリン，HOMA-IR，レプチン濃度およびレプチン/sOB-R 比と有意な負の相関を示し，HDL-C と有意な正の相関を示した。

2. LEPR 遺伝子多型の検討

本研究では，アリアルおよび遺伝子型の頻度は Hardy-Weinberg の式に合致していた。

1) LEPR 遺伝子 Lys109Arg 多型

本研究では Lys/Lys 型の数が少なかったため，Lys アリアルを有する群と Arg/Arg 型との間で解析を行った。男女ともに，2 群間において BMI，血圧，糖・脂

質代謝指標，血中レプチン，アディポネクチンおよび sOB-R 濃度に有意差を認めなかった (第8表)。

2) LEPR 遺伝子 Gln223Arg 多型

本研究では Gln/Gln 型の数が少なかったため，Gln アリアルを有する群と Arg/Arg 型との間で解析を行った。男女ともに，2 群間において BMI，血圧，糖・脂質代謝指標，血中レプチン，アディポネクチンおよび sOB-R 濃度に有意差を認めなかった (第9表)。

3. GPR40 遺伝子 Arg211His 多型の検討

本研究では，アリアルおよび遺伝子型の頻度は Hardy-Weinberg の式に合致しており，以前の報告と同様の頻度であった³⁹⁾。第10表は，健常者群と糖尿病患者群において，GPR40 遺伝子 Arg211His 多型の遺伝子型およびアリアル頻度を比較したものである。両群間において，多型の遺伝子型およびアリアル頻度には有意差を認めなかった。

第11表は，327名の健常男性における GPR40 遺伝子多型と臨床・代謝指標との関係を示したものである⁴¹⁾。3つの遺伝子型の間で，血清インスリン ($P = 0.0075$)，HOMA-IR ($P = 0.0152$) および HOMA- β ($P = 0.0039$) は有意に異なっており，Arg/Arg 型で最も低く，ヘテロ (Arg/His) で中間であり，His/His 型で最も高かった。3 群間で年齢がわずかだが有意に異なった ($P =$

第8A表 健常男性127名における, LEPR 遺伝子 Lys109Arg 多型と臨床・代謝指標との関連

Parameter	Lys/Lys+Lys/Arg	Arg/Arg	P value*
No. of subjects	6+44 (39.4%)	77 (60.6%)	
Age (years)	45±9	45±9	NS
BMI (kg/m ²)	22.7±2.3	22.9±2.3	NS
SBP (mmHg)	120±19	119±15	NS
DBP (mmHg)	75±14	76±11	NS
Glucose (mg/dl)	92±7	92±7	NS
Insulin (μU/ml)	4.5±2.4	4.9±2.7	NS
HOMA-IR	1.1±0.5	1.1±0.6	NS
Total cholesterol (mg/dl)	195±28	199±26	NS
Triglycerides (mg/dl)	104±51	114±76	NS
HDL-cholesterol (mg/dl)	56±13	55±16	NS
LDL-cholesterol (mg/dl)	120±29	126±24	NS
Leptin (ng/ml)	3.6±1.8	3.9±1.8	NS
Adiponectin (μg/ml)	7.0±4.4	7.0±4.7	NS
sOB-R (U/ml)	26.2±6.7	24.7±5.6	NS
Leptin/sOB-R	0.08±0.06	0.09±0.06	NS

平均±標準偏差. NS:有意差なし (Bonferroni 補正により $P>0.0033$). *Mann-Whitney *U* 検定. SBP:収縮期血圧. DBP:拡張期血圧.

第8B表 健常女性90名における, LEPR 遺伝子 Lys109Arg 多型と臨床・代謝指標との関連

Parameter	Lys/Lys+Lys/Arg	Arg/Arg	P value*
No. of subjects	5+27 (35.6%)	58 (64.4%)	
Age (years)	47±9	45±8	NS
BMI (kg/m ²)	20.5±2.5	20.6±2.6	NS
SBP (mmHg)	116±17	112±16	NS
DBP (mmHg)	73±10	69±10	NS
Glucose (mg/dl)	91±8	89±7	NS
Insulin (μU/ml)	4.7±2.9	4.4±2.3	NS
HOMA-IR	1.1±0.7	1.0±0.6	NS
Total cholesterol (mg/dl)	201±35	200±32	NS
Triglycerides (mg/dl)	72±31	71±32	NS
HDL-cholesterol (mg/dl)	67±14	69±15	NS
LDL-cholesterol (mg/dl)	121±28	116±30	NS
Leptin (ng/ml)	6.7±3.6	7.3±3.7	NS
Adiponectin (μg/ml)	13.6±8.0	12.7±5.7	NS
sOB-R (U/ml)	24.4±6.1	23.0±9.1	NS
Leptin/sOB-R	0.16±0.12	0.19±0.14	NS

平均±標準偏差. NS:有意差なし (Bonferroni 補正により $P>0.0033$). *Mann-Whitney *U* 検定. SBP:収縮期血圧. DBP:拡張期血圧.

第9A表 健常男性 127名における, LEPR 遺伝子 Gln223Arg 多型と臨床・代謝指標との関連

Parameter	Gln/Gln+Gln/Arg	Arg/Arg	P value*
No. of subjects	4+25 (22.8%)	98 (77.2%)	
Age (years)	43±9	46±9	NS
BMI (kg/m ²)	22.6±2.1	22.9±2.4	NS
SBP (mmHg)	119±20	120±16	NS
DBP (mmHg)	74±13	76±12	NS
Glucose (mg/dl)	92±8	92±7	NS
Insulin (μU/ml)	4.7±1.8	4.8±2.7	NS
HOMA-IR	1.1±0.4	1.1±0.6	NS
Total cholesterol (mg/dl)	198±23	197±28	NS
Triglycerides (mg/dl)	105±49	112±72	NS
HDL-cholesterol (mg/dl)	54±15	56±15	NS
LDL-cholesterol (mg/dl)	127±22	123±27	NS
Leptin (ng/ml)	3.6±1.8	3.8±1.8	NS
Adiponectin (μg/ml)	7.1±4.2	7.0±4.7	NS
sOB-R (U/ml)	26.1±6.4	25.0±6.0	NS
Leptin/sOB-R	0.08±0.05	0.09±0.06	NS

平均±標準偏差. NS:有意差なし (Bonferroni 補正により $P>0.0033$). *Mann-Whitney U 検定. SBP:収縮期血圧. DBP:拡張期血圧.

第9B表 健常女性 90名における, LEPR 遺伝子 Gln223Arg 多型と臨床・代謝指標との関連

Parameter	Gln/Gln+Gln/Arg	Arg/Arg	P value*
No. of subjects	3+22 (27.8%)	65 (72.2%)	
Age (years)	47±9	45±8	NS
BMI (kg/m ²)	21.0±2.7	20.4±2.4	NS
SBP (mmHg)	117±21	113±14	NS
DBP (mmHg)	73±12	69±10	NS
Glucose (mg/dl)	92±7	89±7	NS
Insulin (μU/ml)	4.6±2.5	4.5±2.5	NS
HOMA-IR	1.1±0.6	1.0±0.6	NS
Total cholesterol (mg/dl)	204±32	199±33	NS
Triglycerides (mg/dl)	69±34	72±31	NS
HDL-cholesterol (mg/dl)	66±13	69±16	NS
LDL-cholesterol (mg/dl)	124±28	116±30	NS
Leptin (ng/ml)	6.5±3.4	7.3±3.8	NS
Adiponectin (μg/ml)	13.9±7.4	12.6±6.3	NS
sOB-R (U/ml)	23.2±6.7	23.6±8.7	NS
Leptin/sOB-R	0.16±0.12	0.18±0.14	NS

平均±標準偏差. NS:有意差なし (Bonferroni 補正により $P>0.0033$). *Mann-Whitney U 検定. SBP:収縮期血圧. DBP:拡張期血圧.

第10表 健常者および2型糖尿病患者における, GPR40 遺伝子多型の分布

	Controls (n=327)	Patients (n=203)	P*
Genotype frequencies			
Arg/Arg	15 (4.6%)	11 (5.4%)	
Arg/His	107 (32.7%)	60 (29.6%)	NS**
His/His	205 (62.7%)	132 (65.0%)	
Allele frequencies			
Arg	137 (20.9%)	82 (20.2%)	
His	517 (79.1%)	324 (79.8%)	NS

NS: 有意差なし ($P > 0.05$). *Fisherの直接法.

**Arg/Arg + Arg/His 群と His/His 群との間で解析した.

第11表 健常男性 327 名における, GPR40 遺伝子 Arg211His 多型と臨床・代謝指標との関連

Parameter	Arg/Arg	Arg/His	His/His	P*
No. of subjects	15 (4.6%)	107 (32.7%)	205 (62.7%)	
Age (years)	54 ± 9	48 ± 8	50 ± 9	0.0416
BMI (kg/m ²)	22.1 ± 1.9	23.3 ± 2.3	23.3 ± 2.5	NS
Glucose (mg/dl)	96 ± 7	94 ± 6	94 ± 6	NS
Insulin (μU/ml)	4.1 ± 2.9	5.1 ± 2.6	5.5 ± 2.4	0.0075
HOMA-IR	1.0 ± 0.7	1.2 ± 0.6	1.3 ± 0.6	0.0152
HOMA-β	46 ± 29	60 ± 31	65 ± 29	0.0039
Total cholesterol (mg/dl)	212 ± 21	206 ± 30	211 ± 30	NS
Triglycerides (mg/dl)	90 ± 69	112 ± 74	125 ± 94	NS
HDL-cholesterol (mg/dl)	59 ± 11	60 ± 13	58 ± 13	NS
LDL-cholesterol (mg/dl)	130 ± 22	122 ± 29	126 ± 27	NS
Free Fatty Acids (mEq/L)	0.63 ± 0.24	0.70 ± 0.24	0.74 ± 0.37	NS

平均 ± 標準偏差. NS: 有意差なし ($P > 0.05$). *Kruskal-Wallis 検定.

(Ogawa T et al: Metabolism 54: 296-299, 2005⁴¹⁾の Table 1 を許可を得て転載)

第12表 健常男性 327 名における

(A) 血清インスリンを従属変数とした重回帰分析

Parameter	R	P
Age	-0.132	0.0076
BMI	0.412	<0.0001
Genotype	0.151	0.0023

(B) HOMA-IR を従属変数とした重回帰分析

Parameter	R	P
Age	-0.082	NS
BMI	0.422	<0.0001
Genotype	0.138	0.0055

(C) HOMA-β を従属変数とした重回帰分析

Parameter	R	P
Age	-0.271	<0.0001
BMI	0.315	<0.0001
Genotype	0.173	0.0005

NS: 有意差なし ($P > 0.05$).

GPR40 遺伝子型は以下のように規定した: Arg/Arg = 0, Arg/His = 1, His/His = 2.

(Ogawa T et al: Metabolism 54: 296-299, 2005⁴¹⁾の Table 2 を許可を得て転載)

0.0416). その他の指標に関しては, 3 群間で有意差を認めなかった。

第 12 表は, GPR40 の遺伝子型と血清インスリン, HOMA-IR および HOMA- β との間の関係を重回帰分析で確認したものである⁴¹⁾. 年齢および BMI を独立変数とした重回帰分析において, 遺伝子型と血清インスリン ($R=0.151$, $P=0.0023$), HOMA-IR ($R=0.138$, $P=0.0055$) および HOMA- β ($R=0.173$, $P=0.0005$) との間に有意な関連が認められた。

考 察

本研究では, 血中 sOB-R 濃度が BMI, インスリン抵抗性, 脂質代謝指標, 血中レプチンおよびアディポネクチン濃度と関連していること, また GPR40 遺伝子の Arg211His 多型が血清インスリン濃度およびインスリン分泌能と関連していることが示唆された。

1. 血中可溶性レプチン受容体濃度に関して

レプチンやアディポネクチンとは逆に, 血中 sOB-R 濃度は女性よりも男性で有意に高かった。sOB-R 濃度に関する性差はすでに報告されており, いずれも女性よりも男性で高値であった^{14), 16), 42)}. Ogier らは, sOB-R 濃度の性差は体脂肪率の違いにより説明できると報告したが¹⁴⁾, 本研究では体脂肪率を測定できなかった。日本人での検討では, sOB-R 濃度は生理周期の間有意には変化せず¹⁷⁾, また *in vitro* fertilization 中 sOB-R 濃度に有意差を認めなかったと報告されている¹⁸⁾. 最近拒食症患者において, 生理の回復に伴い sOB-R 濃度が減少傾向を示すと報告された⁴³⁾. 本研究では, 閉経前 (50 歳未満) の健常女性は, 閉経していると思われる (50 歳以上の) 健常女性よりも sOB-R 濃度が有意に ($P=0.007$) 低いことを認めた。この結果からは, 女性ホルモン濃度の変化が sOB-R 濃度に影響を与える可能性が示唆された。

本研究では, 健常者において年齢, 性別および BMI で補正した後も, sOB-R 濃度はインスリン, HOMA-IR, 中性脂肪およびレプチン濃度と負の相関を示し, HDL-C およびアディポネクチン濃度と正の相関を示した。sOB-R 濃度と BMI またはレプチン濃度との負の相関はすでに報告されている¹⁴⁻¹⁸⁾. しかし一方で, sOB-R 濃度とインスリン濃度との関連に関しては, 相関を認めなかった¹⁶⁾ という報告と, 負の相関を認めたが BMI で補正後は相関が消失した²¹⁾ という報告がある。最近 Sandhofer らは, 76 人のメタボリックシンドロームを呈する中年肥満男性において, sOB-R 濃度は年齢, BMI および体

脂肪量とは独立して, インスリンおよび HOMA-IR と負の相関を示すことを報告した⁴⁴⁾.

アディポネクチンは脂肪組織から特異的に分泌され, その血中濃度は肥満, 糖尿病または冠動脈疾患を有する者では低いことが報告されている^{45), 46)}. また, 血中アディポネクチン濃度は年齢, 性別および BMI とは独立して HOMA-IR と負の相関, HDL-C と正の相関を示すことが報告されている³⁷⁾. したがって, sOB-R はアディポネクチンと同様に, 善玉のアディポサイトカインとして作用している可能性が考えられた。すなわち, sOB-R 濃度が高い場合にはインスリン抵抗性が低く, HDL-C およびアディポネクチン濃度が高く, インスリン抵抗性およびメタボリックシンドロームの改善を反映していることを本研究は示唆した。Sandhofer らも, BMI および体脂肪量が同程度でも, メタボリックシンドロームのコンポーネント数が増すにつれて sOB-R 濃度が減少することを示しており, sOB-R 低値はメタボリックシンドロームの一つの指標かもしれないと考察している⁴⁴⁾. しかし, sOB-R 濃度が上昇するとインスリン抵抗性や脂質代謝が改善するのか, あるいはインスリン抵抗性や脂質代謝が改善すると sOB-R 濃度が上昇するのかという因果関係は断片的検討のため不明であり, 今後の縦断的検討が必要と考えられる。

糖尿病患者においても, 年齢, 性別および BMI で補正した後も, sOB-R 濃度はインスリン, HOMA-IR およびレプチン濃度と負の相関を示し, HDL-C と正の相関を示した。糖尿病患者における sOB-R 濃度の報告は二報しかなく, いずれも特殊な病態での検討である。Lewandowski らは, 正常の妊婦に比べてインスリン依存型糖尿病の妊婦では sOB-R 濃度が有意に高いことを報告した⁴⁷⁾. Pecoits-Filho らは, 非糖尿病性末期腎不全患者よりも糖尿病性末期腎不全患者において sOB-R 濃度は有意に高く, また sOB-R 濃度は糖化ヘモグロビン値と正相関することを報告した⁴⁸⁾. 著者は, 一般的に BMI, HOMA-IR およびレプチン濃度が高い 2 型糖尿病患者よりも健常者において sOB-R 濃度が高いことを予測したが, 本研究では健常者と糖尿病患者との間では血中 sOB-R 濃度に有意差を認めなかった。

元来フリーレプチン濃度はゲル・フィルトレーション・クロマトグラフィー法によってのみ測定できたが, sOB-R に対するレプチンの比 (レプチン/sOB-R 比) が体脂肪率と強く関連することを Ogier らは報告し¹⁴⁾, この比はフリーレプチンのインデックスとして簡便に使用されるようになった⁴⁹⁾. 本研究では, レプチン/sOB-R 比は男性よりも女性で有意に高値であった。健常者より

も糖尿病患者でこの比は有意に高値であったが、BMIで補正後に有意差は消失した。また健常者において、レプチン/sOB-R比はBMIおよびHOMA-IRと正の相関を示し、HDL-Cおよびアディポネクチン濃度と負の相関を示した。本研究では、レプチン/sOB-R比はレプチン自体と比較して、BMIやインスリン抵抗性との相関係数を若干高めたが、付加的な意義を認めなかった。

2. LEPR 遺伝子多型に関して

1997年以降異なる人種集団において、ヒトLEPR遺伝子の多型が報告された。Matsuokaらは、日本人において七つの多型を同定したが、肥満者と非肥満者との間でそれぞれの多型のアレル頻度に有意差を認めなかった²³⁾。Wautersらは、閉経後の白人女性において、Gln223ホモ遺伝子型の者は腹部脂肪がより多く、Lys109ホモ遺伝子型の者はレプチン濃度がより高いことを報告した²⁴⁾。Quintonらは、閉経後の白人女性において、Gln223アレルを有する者はBMI、体脂肪量およびレプチン濃度が高く、レプチン結合活性が低いことを報告し、この多型により受容体機能に変化する可能性が示唆された²⁵⁾。Heoらはメタ解析において、三つのLEPR多型(Lys109Arg, Gln223Arg, Lys656Asn)とBMIまたはウェスト周囲径との間に関連がないと結論した⁵⁰⁾。以上のごとく報告により結果の違いが見られるが、これは対象とする人種、性別、年齢層および肥満度の違いが原因かもしれない。本研究では、LEPR遺伝子のLys109Arg多型またはGln223Arg多型とBMI、インスリン、HOMA-IR、血清脂質、レプチン濃度およびsOB-R濃度との間に有意な関連を認めなかった。母集団の人数が十分ではなかった可能性を否定できないが、本研究では日本人集団においてLEPR遺伝子のLys109Arg多型およびGln223Arg多型は各種臨床・代謝指標と関連しないと結論した。

3. GPR40 遺伝子 Arg211His 多型に関して

GPR40はG蛋白質共役型受容体の一員であり、GPR41~43とともに、19番染色体長腕13.1にマップされたCD22の下流の遺伝子としてクローニングされた⁵¹⁾。GPR40は特徴的な7回膜貫通型ドメインを含む300アミノ酸からなり、イントロンがない。長鎖脂肪酸は、細胞内代謝およびfatty acyl-CoAのような脂質由来分子の産生を通じて、膵β細胞からのGSISを増強すると従来考えられてきた。脂肪酸がGPR40を活性化するという最近の報告は、脂肪酸が細胞外受容体のリガンドとして作用することを示している^{30~32)}。Itohらは、

膵β細胞に豊富に発現しているGPR40が長鎖脂肪酸の受容体として機能することを示し、また長鎖脂肪酸はGPR40を活性化することにより膵β細胞からのGSISを増強することを示した³⁰⁾。Briscoeらは、ヒトGPR40発現細胞において中鎖~長鎖脂肪酸が細胞内Ca濃度の上昇を誘発することを示し、またGPR40がげっ歯類の膵β細胞とともにヒトの膵臓にも特異的に発現していることを示した³¹⁾。これらの結果は、脂肪酸によるインスリン分泌機能の調節に関して新たな見解を示した。

本研究では、健常者と2型糖尿病患者との間で、GPR40遺伝子型およびアレル頻度に有意な違いを認めなかった。このことは、GPR40遺伝子のArg211His変異が単独では2型糖尿病の発症に関与しないことを示唆している。なお、今回対象とした糖尿病患者の多くが糖毒性の強い入院例であり、糖・脂質代謝指標との関連については検討しなかった。本研究では、健常者において遺伝子型の間で血糖や血清脂質には有意差を認めなかったが、His/His型の者よりもArg/Arg型の者において血清インスリン、HOMA-IRおよびHOMA-βは有意に低かった。*in vitro*および*in vivo*にて、この多型に関する機能的な研究は今まで報告されておらず、これらの違いの正確な機序は不明である。Briscoeらは、対照のやせ型マウスと比べて*ob/ob*マウスの膵臓では、インスリンmRNAと並行してGPR40 mRNAの発現が有意に上昇すると報告した³¹⁾。したがって、Arg211アレルを持つヒトのGPR40は転写活性が低下して同等のグルコースと脂肪酸の条件下でのインスリン分泌が低下する、またはHis211アレルを持つヒトのGPR40はインスリン分泌を増強してインスリン抵抗性になりやすい可能性がある。GPR40遺伝子多型がインスリン分泌またはインスリン抵抗性のいずれに主に影響するかは不明であるが、多重比較のためのBonferroni補正の後にHOMA-βのみが遺伝子型の間で有意に異なるという結果は、インスリン分泌により影響されることを示唆していると思われる。本研究では、残念ながら経口糖負荷または食事負荷試験を行うことができなかったが、GPR40は高濃度グルコースでより活性化されるため³⁰⁾、負荷後にさらなるインスリン濃度の違いが見られる可能性がある。本研究ではまた、年齢およびBMIを独立変数とした重回帰分析において、GPR40遺伝子多型が血清インスリン、HOMA-IRおよびHOMA-βと有意な関連があることを示した。したがって、GPR40遺伝子のArg211His多型は他の遺伝子とともにインスリン分泌能に関与し、膵β細胞機能障害に関連している可能性が示唆された。

総 括

本研究では、血中 sOB-R 濃度および LEPR 遺伝子多型と BMI, 血圧, 血糖, 血清脂質, 血清インスリン濃度, HOMA-IR, 血中レプチンおよびアディポネクチン濃度との関係について、日本人健常者および 2 型糖尿病患者を対象に検討した。また、GPR40 遺伝子 Arg211His 多型と血清インスリン濃度, HOMA-IR, HOMA- β および血清脂質との関係について日本人健常男性を対象に検討し、以下の結果を得た。

1. 健常者において、血中 sOB-R 濃度は年齢、性別および BMI とは独立して、血清インスリン, HOMA-IR, 中性脂肪および血中レプチン濃度と負の相関を示し、HDL-C および血中アディポネクチン濃度と正の相関を示した。糖尿病患者においても、血中 sOB-R 濃度は年齢、性別および BMI とは独立して、血清インスリン, HOMA-IR および血中レプチン濃度と負の相関を示し、HDL-C と正の相関を示した。

2. LEPR 遺伝子 Lys109Arg 多型および Gln223Arg 多型は、BMI, 血清インスリン, HOMA-IR, 血清脂質, 血中レプチンおよび sOB-R 濃度との関連を認めなかった。

3. GPR40 遺伝子 Arg211His 多型と血清インスリン, HOMA-IR および特に HOMA- β と強い関連を認め、年齢および BMI で補正した後もそれらの関連は有意であった。

以上より、sOB-R はインスリン抵抗性に関連する因子の一つであることが示唆された。また、GPR40 遺伝子 Arg211His 多型はインスリン分泌能に関連する可能性が示唆された。インスリン抵抗性やインスリン分泌低下と関連する既知の危険因子に加え、これらの新たな分泌因子や遺伝子多型が 2 型糖尿病の予測因子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た。

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享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兼医学部内科学教室広瀬 寛講師に感謝いたします。さらに御協力をいただいた研究室、中央臨床検査部、先端医学研究所および三越診療所の方々に感謝いたします。

本研究の一部は、第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2004 年, 東京) および第 64 回米国糖尿病学会 (2004 年, オーランド) において発表した。

本論文は、Ogawa T, Hirose H, Yamamoto Y, Nishikai K, Miyashita K, Nakamura H, Saito I, Saruta T : Relationships between serum soluble leptin receptor level and serum leptin and adiponectin levels, insulin resistance index, lipid profile, and leptin receptor gene polymorphisms in the Japanese population. *Metabolism* 53 : 879-885, 2004 の一部、および Ogawa T, Hirose H, Miyashita K, Saito I, Saruta T : GPR40 gene Arg211His polymorphism may contribute to the variation of insulin secretory capacity in Japanese men. *Metabolism* 54 : 296-299, 2005 の一部を含む。

文 献

- 1) DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E : Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. *Diabetes Care* 15 : 318-368, 1992
- 2) Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 285 : 2486-2497, 2001
- 3) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM : Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372 : 425-432, 1994
- 4) Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM : Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269 : 543-546, 1995
- 5) Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL : Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 334 : 292-295, 1996
- 6) Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J : Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 83 : 1263-1271, 1995
- 7) Lee GH, Proença R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, Friedman JM : Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 379 : 632-635, 1996

- 8) Maamra M, Bidlingmaier M, Postel-Vinay MC, Wu Z, Strasburger CJ, Ross RJ : Generation of human soluble leptin receptor by proteolytic cleavage of membrane-anchored receptors. *Endocrinology* 142 : 4389-4393, 2001
- 9) Brabant G, Nave H, Mayr B, Behrend M, van Harmelen V, Arner P : Secretion of free and protein-bound leptin from subcutaneous adipose tissue of lean and obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 87 : 3966-3970, 2002
- 10) Cohen P, Yang G, Yu X, Soukas AA, Wolfish CS, Friedman JM, Li C : Induction of leptin receptor expression in the liver by leptin and food deprivation. *J Biol Chem* 280 : 10034-10039, 2005
- 11) Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, Kolaczynski JW, Heiman ML, Hale J, Becker GW, Bowsher RR, Stephens TW, Caro JF : Evidence of free and bound leptin in human circulation : studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest* 98 : 1277-1282, 1996
- 12) Landt M, Parvin CA, Wong M : Leptin in cerebrospinal fluid from children : correlation with plasma leptin, sexual dimorphism, and lack of protein binding. *Clin Chem* 46 : 854-858, 2000
- 13) Lammert A, Kiess W, Bottner A, Glasow A, Kratzsch J : Soluble leptin receptor represents the main leptin binding activity in human blood. *Biochem Biophys Res Commun* 283 : 982-988, 2001
- 14) Ogier V, Ziegler O, Mejean L, Nicolas JP, Stricker-Krongrad A : Obesity is associated with decreasing levels of the circulating soluble leptin receptor in humans. *Int J Obes* 26 : 496-503, 2002
- 15) Kratzsch J, Lammert A, Bottner A, Seidel B, Mueller G, Thiery J, Hebebrand J, Kiess W : Circulating soluble leptin receptor and free leptin index during childhood, puberty, and adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 87 : 4587-4594, 2002
- 16) Chan JL, Bluher S, Yiannakouris N, Suchard MA, Kratzsch J, Mantzoros CS : Regulation of circulating soluble leptin receptor levels by gender, adiposity, sex steroids, and leptin : observational and interventional studies in humans. *Diabetes* 51 : 2105-2112, 2002
- 17) Shimizu H, Shimomura K, Negishi M, Masunaga M, Uehara Y, Sato N, Shimomura Y, Kasai K, Mori M : Circulating concentrations of soluble leptin receptor : influence of menstrual cycle and diet therapy. *Nutrition* 18 : 309-312, 2002
- 18) Kado N, Kitawaki J, Koshihara H, Ishihara H, Kitaoka Y, Teramoto M, Honjo H : Relationships between the serum levels of soluble leptin receptor and free and bound leptin in non-pregnant women of reproductive age and women undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod* 18 : 715-720, 2003
- 19) Laimer M, Ebenbichler CF, Kaser S, Sandhofer A, Weiss H, Nehoda H, Aigner F, Patsch JR : Weight loss increases soluble leptin receptor levels and the soluble receptor bound fraction of leptin. *Obes Res* 10 : 597-601, 2002
- 20) van Dielen FM, van't Veer C, Buurman WA, Greve J W : Leptin and soluble leptin receptor levels in obese and weight-losing individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 87 : 1708-1716, 2002
- 21) Lahlou N, Issad T, Lebouc Y, Carel JC, Camoin L, Roger M, Girard J : Mutations in the human leptin and leptin receptor genes as models of serum leptin receptor regulation. *Diabetes* 51 : 1980-1985, 2002
- 22) Thompson DB, Ravussin E, Bennett PH, Bogardus C : Structure and sequence variation at the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians. *Hum Mol Genet* 6 : 675-679, 1997
- 23) Matsuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, Matsuda J, Masuzaki H, Miyawaki T, Azuma N, Natsui K, Nishimura H, Yoshimasa Y, Nishi S, Thompson DB, Nakao K : Human leptin receptor gene in obese Japanese subjects : evidence against either obesity-causing mutations or association of sequence variants with obesity. *Diabetologia* 40 : 1204-1210, 1997
- 24) Wauters M, Mertens I, Chagnon M, Rankinen T, Considine RV, Chagnon YC, Van Gaal LF, Bouchard C : Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. *Int J Obes* 25 : 714-720, 2001
- 25) Quinton ND, Lee AJ, Ross RJM, Eastell R, Blakemore AI : A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet* 108 : 233-236, 2001
- 26) Stein DT, Stevenson BE, Chester MW, Basit M, Daniels MB, Turley SD, McGarry JD : The insulinotropic potency of fatty acids is influenced profoundly by their chain length and degree of saturation. *J Clin Invest* 100 : 398-403, 1996
- 27) Lee Y, Hirose H, Ohneda M, Johnson JH, McGarry JD, Unger RH : Beta-cell lipotoxicity in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus of obese rats : impairment in adipocyte-beta-cell relationships. *Proc Natl Acad Sci USA* 91 : 10878-10882, 1994
- 28) Hirose H, Lee YH, Inman LR, Nagasawa Y, Johnson JH, Unger RH : Defective fatty acid-mediated beta-cell compensation in Zucker diabetic fatty rats. Pathogenic implications for obesity-dependent diabetes. *J Biol Chem* 271 : 5633-5637, 1996
- 29) Yaney GC, Corkey BE : Fatty acid metabolism and insulin secretion in pancreatic beta cells. *Diabetologia* 46 : 1297-1312, 2003
- 30) Itoh Y, Kawamata Y, Harada M, Kobayashi M, Fujii R, Fukusumi S, Ogi K, Hosoya M, Tanaka Y, Uejima H, Tanaka H, Maruyama Y, Satoh R, Okubo S, Kizawa H, Komatsu H, Matsumura F, Noguchi Y, Shinohara T, Hinuma S, Fujisawa Y, Fujino M : Free

- fatty acids regulate insulin secretion from pancreatic β cells through GPR40. *Nature* 422 : 173-176, 2003
- 31) Briscoe CP, Tadayyon M, Andrews JL, Benson WG, Chambers JK, Eilert MM, Ellis C, Elshourbagy NA, Goetz AS, Minnick DT, Murdock PR, Sauls HR Jr, Shabon U, Spinage LD, Strum JC, Szekeres PG, Tan KB, Way JM, Ignar DM, Wilson S, Muir AI : The orphan G protein-coupled receptor GPR40 is activated by medium and long chain fatty acids. *J Biol Chem* 278 : 11303-11311, 2003
 - 32) Kotarsky K, Nilsson NE, Flodgren E, Owman C, Olde B : A human cell surface receptor activated by free fatty acids and thiazolidinedione drugs. *Biochem Biophys Res Commun* 301 : 406-410, 2003
 - 33) Haga H, Yamada R, Ohnishi Y, Nakamura Y, Tanaka T : Gene-based SNP discovery as part of the Japanese millennium genome project : identification of 190,562 genetic variations in the human genome. Single-nucleotide polymorphism. *J Hum Genet* 47 : 605-610, 2002
 - 34) 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
 - 35) 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
 - 36) 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
 - 37) Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Tomita M, Taniyama M, Matsubara K, Okazaki Y, Ishi T, Nishikai K, Saruta T : Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin Sci* 103 : 137-142, 2002
 - 38) Yamamoto Y, Hirose H, Miyashita K, Nishikai K, Saito I, Taniyama M, Tomita M, Saruta T : PPAR γ 2 gene Pro12Ala polymorphism may influence serum level of an adipocyte-derived protein, adiponectin, in the Japanese population. *Metabolism* 51 : 1407-1409, 2002
 - 39) Matsunaga-Irie S, Maruyama T, Yamamoto Y, Motohashi Y, Hirose H, Shimada A, Murata M, Saruta T : Relation between development of nephropathy and the p22phox C242T and receptor for advanced glycation end product G1704T gene polymorphism in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 27 : 303-307, 2004
 - 40) Ogawa T, Hirose H, Yamamoto Y, Nishikai K, Miyashita K, Nakamura H, Saito I, Saruta T : Relationships between serum soluble leptin receptor level and serum leptin and adiponectin levels, insulin resistance index, lipid profile, and leptin receptor gene polymorphisms in the Japanese population. *Metabolism* 53 : 879-885, 2004
 - 41) Ogawa T, Hirose H, Miyashita K, Saito I, Saruta T : GPR40 gene Arg211His polymorphism may contribute to the variation of insulin secretory capacity in Japanese men. *Metabolism* 54 : 296-299, 2005
 - 42) Mann DR, Johnson AO, Gimpel T, Castracane VD : Changes in circulating leptin, leptin receptor, and gonadal hormones from infancy until advanced age in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 88 : 3339-3345, 2003
 - 43) Misra M, Miller KK, Almazan C, Ramaswamy K, Aggarwal A, Herzog DB, Neubauer G, Breu J, Klibanski A : Hormonal and body composition predictors of soluble leptin receptor, leptin, and free leptin index in adolescent girls with anorexia nervosa and controls and relation to insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 89 : 3486-3495, 2004
 - 44) Sandhofer A, Laimer M, Ebenbichler CF, Kaser S, Paulweber B, Patsch JR : Soluble leptin receptor and soluble receptor-bound fraction of leptin in the metabolic syndrome. *Obes Res* 11 : 760-768, 2003
 - 45) Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y : Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20 : 1595-1599, 2000
 - 46) Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA : Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes : close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 86 : 1930-1935, 2001
 - 47) Lewandowski K, Horn R, O'callaghan CJ, Dunlop D, Medley GF, O'Hare P, Brabant G : Free leptin, bound leptin, and soluble leptin receptor in normal and diabetic pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 84 : 300-306, 1999
 - 48) Pecoits-Filho R, Nordfors L, Heimbürger O, Lindholm B, Anderstam B, Marchlewska A, Stenvinkel P : Soluble leptin receptors and serum leptin in end-stage renal disease : relationship with inflammation and body composition. *Eur J Clin Invest* 32 : 811-817, 2002
 - 49) Yannakoulia M, Yiannakouris N, Bluher S, Matalas AL, Klimis-Zacas D, Mantzoros CS : Body fat mass and macronutrient intake in relation to circulating soluble leptin receptor, free leptin index, adiponectin, and resistin concentrations in healthy humans. *J Clin*

- Endocrinol Metab 88 : 1730-1736, 2003
- 50) Heo M, Leibel RL, Fontaine KR, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, Pesonen U, Rissanen A, Laakso M, Uusitupa MI, Chagnon Y, Bouchard C, Donohoue PA, Burns TL, Shuldiner AR, Silver K, Andersen RE, Pedersen O, Echwald S, Sorensen TI, Behn P, Permutt MA, Jacobs KB, Elston RC, Hoffman DJ, Gropp E, Allison DB : A meta-analytic investigation of linkage and association of common leptin receptor (LEPR) polymorphisms with body mass index and waist circumference. *Int J Obes* 26 : 640-646, 2002
- 51) Sawzdargo M, George SR, Nguyen T, Xu S, Kolakowski LF, O'Dowd BF : A cluster of four novel human G protein-coupled receptor genes occurring in close proximity to CD22 gene on chromosome 19q13.1. *Biochem Biophys Res Commun* 239 : 543-547, 1997
-