

厚生科学研究補助金（長寿科学総合研究事業）
総括研究報告書

肥満、糖尿病、胆石症の新しい関連遺伝子、コレシストキニン-A 受容体遺伝子

主任研究者 宮坂京子 東京都老人総合研究所 研究室長

研究要旨 生活習慣病の発症には、遺伝的背景と生活習慣、環境が深く関与する。我々は CCK-A 受容体遺伝子異常が生活習慣病発症の遺伝的要因のひとつであることを提示し、疫学調査によって成人後の肥満との関係を確認した。環境変化に対応する個体の反応をしらべることは、疾患発症のメカニズムを調べる上で重要であるが、ヒトで行うことには限界があるので、モデル動物を用いて行う。

研究分担者 船越顕博 国立病院九州がんセンター
消化器部 部長、大久保賢治 東京都老人医療センター
消化器科 医員

A. 研究目的

CCK-A 受容体欠損という病態は、肥満、糖尿病、胆石症の単一の原因ではないが、発症のエンハンサーであることを提示してきた。本研究の最終目標は、生活習慣病の発症予備群を割り出して1次予防をすることである。

B. 研究方法

CCK-A 受容体遺伝子の開始コドン ATG の A を+1 としたときのプロモーター領域と思われる、-9 から-556 の間を PCR で増幅、クローニングし、塩基配列解析を行った。簡便なミスマッチプライマーを用いる PCR-RFLP 法を開発し、住民検診、超高齢者、および各症例について肥満度(BMI)、血清レプチン濃度、糖尿病、高脂血症のチェックを行った。また、CCK AR 遺伝子ノックアウトマウスの機能検索を行った。

C. 研究結果

40-70 才代 162 人の住民検診の結果、CCK-A 受容体遺伝子多型は約 40% に認められ、血清レプチン濃度上昇との関連性が示唆された。糖尿病患者 50 例の検討では多型を有する患者では有意に高コレステロール血症を認め、特に LDL コレステロールの上昇が示唆された。超高齢者では多型の発生頻度が減少する傾向がみられた。

D. 考察

住民検診で CCK-A 受容体遺伝子多型と血清レプチン濃度との有意の相関を認めた。さらに CCK-A 受容体遺伝子多型を有する人は 18 才時やせていても、将来肥満になる可能性を有する結果も得た。糖尿病、超高齢者においては、さらに症例を集める必要があると考える。ノックアウトマウスは phenotype の確認を行った。

E. 結論

CCK-A 受容体遺伝子多型の同定は成人後の肥満と関わりが強いと思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 船越顕博、宮坂京子。CCK-A 受容体欠損ラットと摂食行動異常。Frontiers in Gastroenterology 3: 74-83, 1998.

2. 学会発表

1) 船越顕博、宮坂京子。生活習慣病発症促進因子として CCK-A 受容体遺伝子異常の解析。第 40 回日本消化器病学会大会（シンポジウム） 1998. 10.28-30. 東京

2) 松末公彦、瀧口総一、高田 豊、船越顕博、宮坂京子、河野 彬。DNA methylation によるラット cholecystokinin type A receptor 遺伝子発現制御 第 21 回日本分子生物学会 1998. 12.16-19. 横浜

G. 知的所有権の取得状況

II 型糖尿病(NIDDM)遺伝子の検出方法
(特許整理番号 SG-7-003)

厚生科学研究補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

Cholecystokinin (CCK)-A 受容体遺伝子発現異常の疫学調査

分担研究者 船越顕博 国立病院九州がんセンター、消化器部

研究要旨 生活習慣病（肥満、高脂血症、糖尿病）は動脈硬化を増悪させるとともに寿命を縮める要因となる。胆石症、肥満、高脂血症、糖尿病発症の遺伝的素因のひとつとして、CCKAR 遺伝子欠損という病態を提示し、生活習慣病発症に対する役割をを明らかにすることを計画した。その結果、CCKAR 遺伝子多型は肥満および高脂血症との関連が示唆された。

A. 研究目的

我々は、最近、肥満、高脂血症、糖尿病を自然発症するラットが、遺伝子異常により CCK-A-受容体 (CCKAR) を全く発現しないことを発見した。しかし、CCKAR 欠損そのものが、単独でこれらの病因になっている可能性は考えにくく、CCKAR 欠損という病態は生活習慣病発症の増悪因子であるのではないかということが、我々のオリジナルな仮説である。

B. 研究方法

CCKAR 遺伝子の開始コドン ATG の A を +1 としたときの、プロモーター領域と思われる、-9 から -556 の間を PCR で増幅、クローニングし、塩基配列解析を行った。予備的検討からプロモーター領域 2 ヶ所に塩基配列置換を認めていることから、大規模疫学調査を行うために、より簡便なミスマッチプライマーを用いる PCR-RFLP 法を開発する。住民検診（長寿医療センター、長期縦断疫学研究=NILS-LSA）、および、各症例について肥満度(BMI)、血清レプチン濃度、糖尿病、高脂血症のチェックを行う。

C. 研究結果

(1) CCKAR 遺伝子プロモーター領域と思われる塩基配列部分は種族を越えて一定であるが、胆石患者 15 例中 9 例(60%)において 2 ヶ所に塩基置換を観察した。(2) この多型の有無を検討する簡便なる PCR-RFLP 法を確立できた。これをもとに 40-70 才代 162 人の住民検診の結果、CCKAR 遺伝子多

型は約 40% に認められ、血清レプチン濃度上昇との関連性が示唆された。糖尿病患者 50 例の検討では多型を有する患者では wild type を示す患者とは BMI、年齢、HbA1c に差を認めないが、有意に高コレステロール血症を認め、特に LDL コレステロールの上昇が示唆された。

D. 考察

CCKAR は膵、胆嚢、中枢神経系の一部に存在し、膵増殖、胆嚢収縮、満腹感などの生理作用に重要である。今回の検討で、CCKAR 遺伝子プロモーター領域の塩基置換を胆石症で肥満、糖尿病合併症例において高率に観察した。しかも、大量のサンプルを処理できる簡便な PCR-RFLP 法を開発できた。この方法を用い、住民検診での検討では血清レプチン濃度との有意の相関を認めた。さらに CCKAR 遺伝子多型を有する人は 18 才時やせていても、将来肥満になる可能性を有する結果も得た。血清レプチンは BMI との相関がいわれていることから、肥満予知、食欲異常の観点からも大変興味深い。糖尿病においては、CCKAR 多型を有する糖尿病患者の動脈硬化促進の一因になるかもしれない。

E. 結論

CCKAR の多型の同定は今後、肥満、糖尿病（高脂血症）および胆石症の早期発見、予防の一助になると期待され、ヒト生活習慣病における CCK-A 受容体遺伝子異常の存在する可能性を提示した。

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

ヒトにおける加齢とCCK-A受容体遺伝子多型に関する研究

分担研究者 大久保賢治 東京都老人医療センター消化器科

研究要旨 高齢者は高血圧、脳梗塞など動脈硬化性疾患や消化器の分野では胆石症やその既往を有するものが多く、これらは近年生活習慣病として生活習慣の改善により病気の一次予防が試みられている。また一方疾患の遺伝的背景も無視できずいくつかの遺伝子異常が検討され将来的に治療や疾患の予防に応用することが考えられている。当施設は65歳以上の高齢者を対象とした老年病の高度専門病院で、特に75歳以上の高齢者の患者が多く、高齢者における生活習慣病の発症とその背景因子を検討することに適している。我々はCCK-A受容体遺伝子異常が生活習慣病発症の遺伝的要因のひとつであると考えているが高齢者のCCK-A受容体遺伝子多型を検討し生活習慣病発症のメカニズムを検討した。

A. 研究目的

高齢者は高血圧、脳梗塞など動脈硬化性疾患や胆石症の有病率が多く、これらは生活習慣病として長年の生活習慣が疾患の形成に関与していると考えられるが、一方遺伝的素因が発症に関与していることも想定されている。我々はCCK-A受容体遺伝子異常が生活習慣病発症の遺伝的要因のひとつであると考えているが、75歳以上の高齢者を対象としてCCK-A受容体遺伝子多型を測定し胆石症など背景疾患との関係を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1998年8月から東京都老人医療センター消化器科に入院した75歳以上の高齢者で進行癌患者を除外した21症例（男性7人、女性14人）を対象としてCCK-A受容体遺伝子多型を測定し、年齢、性別、高脂血症、糖尿病、高血圧、胆石症の有無、BMI(body mass index)、血清アルブミン値、尿酸値、総コレステロール値、HDL-C、ヘモグロビンA1c、レプチンなどとの関係を検討した。

C. 研究結果

21症例中、野生型は15例（71.4%）変異型は6例（28.6%）にみられた。変異型は84歳以下で33.3%85歳以上で26.7%と超高齢者で低下する傾向にあり、男性の14.3%女性の35.7%を占め女性に多い傾向にあった。背景疾患では胆石症、高脂血症、糖尿病、高血圧について検討したが有意差はなかった。またBMI(body

mass index)、血清アルブミン値、尿酸値、総コレステロール値、HDL-C、ヘモグロビンA1c、レプチン値に関して野生型群と変異型群では差は認めなかった。レプチン値が増加するとBMIが増加する傾向にあったが相関関係は得られなかった。

D. 考察

今回の検討では症例数が少ないため有意差を生じなかったが、高齢者のCCK-A受容体遺伝子型は85歳以上の超高齢者では変異型が低下する傾向があり、CCK-A受容体遺伝子型に異常がないことは生活習慣病の発症を予防し長寿に関連している可能性が考えられた。また女性のほうが変異型が多く、胆石症の発症が女性に多いことと関連している可能性があり、今後症例を積み重ねて検討を続けていきたい。

E. 結論

高齢者のCCK-A受容体遺伝子型は85歳以上の超高齢者では変異型が低下し、また高齢者のCCK-A受容体多型は女性に多い傾向があった。

F. 研究発表

論文発表

生活習慣・遺伝素因からみた肝・胆・膵疾患 大久保賢治, 松本和則 臨床成人病, 第29巻, 第1号, p76-p80, 1999年