

《原著》

レプチン受容体遺伝子多型 Lys109Arg 及び Gln223Arg と肥満の関連

近藤 志保* 近藤 枝里** 井田妃早美**
田中 佑実** 深澤のぞみ** 山本 明子*
石黒 洋* 北川 元二** 藤木 理代**

要旨

【目的】脂肪細胞から分泌されるレプチンは、本来、食欲抑制作用があり、過度の肥満を防ぐ働きがあるが、多くの肥満者ではレプチン抵抗性が肥満の原因の1つと考えられている。レプチン抵抗性のメカニズムは未だ不明であるが、要因の一つにレプチン受容体遺伝子多型が挙げられ、Lys109あるいはGln223を持つと血中レプチン濃度が上昇することが報告されている。そこで本研究では、日本人で報告されている遺伝子多型のうち、比較的頻度が高く、かつ、受容体の細胞外ドメインに存在する遺伝子多型であるLys109ArgおよびGln223Argについて、BMIとの関連を検討した。

【方法】文書により同意の得られた40歳以上男性群 (n=22 53 (42~80) 歳 BMI=27.4±4.5 (20.9~35.5))、40歳以上女性群 (n=30 53 (40~81) 歳 BMI=23.4±4.2 (17.1~32.2))、40歳未満女性群 (n=163 22 (20~39) 歳 BMI=21.0±2.8 (15.2~40.0)) の、BMIとレプチン受容体遺伝子多型Lys109ArgおよびGln223Argを解析した。

【結果】40歳以上の女性において、レプチン受容体遺伝子多型Lys109およびGln223を併せ持つ者のBMIは26.0±3.9で、Lys109およびGln223を併せ持たない者のBMI 22.4±4.0に比べて、有意に高値を示した (p<0.05)。40歳以上の男性、40歳未満の女性においては、BMIの値に、遺伝子多型による有意な差は認められなかった。

【結論】中高年女性において、レプチン受容体遺伝子多型Lys109およびGln223を併せ持つ遺伝子型は、肥満の遺伝因子の一つであると考えられた。

キーワード

肥満、レプチン抵抗性、レプチン受容体遺伝子多型、BMI

1 はじめに

肥満は脂肪組織が過剰に蓄積した状態であると定義される。脂肪組織の蓄積量はエネルギー摂取とエネルギー消費とのバランスによって規定されている。したがって過食は肥満の大きな要因となる。

摂食を調節する主要なホルモンの一つに

レプチンが挙げられる。レプチンは1994年、Friedmanらにより、遺伝性肥満 ob/ob マウスの遺伝子解析で見つけられたホルモンである¹⁾。レプチンは脂肪細胞から分泌される生理活性物質であるアディポサイトカインの一つで、末梢のエネルギー状態 (脂肪組織蓄積量) を直接視床下部にあるレプチン受容体に伝えて「もう食べなくてよい」という命令を出す

* 名古屋大学大学院医学系研究科
** 名古屋学芸大学管理栄養学部

“飽食因子”として働く。さらに、レプチンは交感神経活動を亢進させて活動性の亢進、体温上昇、脂肪燃焼の促進などの作用を有する。これらの作用により、体脂肪量を一定に保つフィードバック機構が働いて、肥満の進展を抑制する。

しかし、肥満者の多くは正常体重者と比べて血中レプチン濃度が高値となり、血中レプチン濃度はBMIや体脂肪量と強く相関する²⁾。これは、レプチンの抗肥満作用が減弱した“レプチン抵抗性”が起きていると想定されているが、肥満者にみられるレプチン抵抗性を引き起こす要因は未だ不明な点が多い³⁾。

レプチン抵抗性の要因の一つとして、レプチン受容体遺伝子多型の影響が以前から研究されてきた。Parkら⁴⁾は、非糖尿病の中高年男女688名(男性308名 女性380名、年齢 64.2 ± 4.2 歳、BMI 23.6 ± 3.1)を対象とした研究においてLys109ホモを持つ者はArg109を持つ者に比べBMIが高い、またGln223ホモを持つ者はArg223を持つ者に比べBMIが高い傾向にあることを報告した。Wautersら⁵⁾は、閉経後の白人女性82名(年齢 50 ± 6 歳、BMI 35.5 ± 5.9)を対象とした研究においてGln223ホモを持つと体脂肪量が高いことを報告した。

一方、Ogawaら⁶⁾は、日本人の健康な男性198名(年齢 44.5 ± 9.3 歳、BMI 22.9 ± 2.2)と健康な女性221名(年齢 41.7 ± 9.7 歳、BMI 20.6 ± 2.4)を対象とした研究において、レプチン受容体遺伝子Lys109ArgおよびGln223Argの遺伝子多型とBMIは関係ないと報告している。しかし、レプチン受容体遺伝子にGln223を持つとレプチンとの結合能が低下するとの報告⁷⁾もあることから、遺伝子多型によるレプチン受容体の変化はレプチンとの結合能に影響を与えることが考えられる。これまでの研究では、単独のレプチン受容体遺伝子多型とBMIの関連を検討したものが多く、その結果も様々で一定の結論は得られていない。そこで、本研究では、2つのレプチン受容体遺伝子多型を組み合わせた遺伝子型とBMIの関連を検討した。レプチン受容体遺伝子多型は、日本人で報告されている多型⁸⁾のうち、比較的変異が多く、受容体の細胞外ドメ

インに存在する遺伝子多型であるLys109ArgおよびGln223Argに着目した。対象は、レプチン受容体遺伝子多型と肥満の関係が報告^{4, 5, 6)}されている中高年女性を中心に、中高年男性および若年女性の結果と比較検討した。

2 対象および方法

文書により同意の得られた215名を対象とした。対象からは糖尿病患者を除外した。本研究は名古屋大学総合保健体育科学センターにおけるヒトを対象とする研究審査(承認番号0005)と名古屋学芸大学研究倫理に係る審査(承認番号11)の承認を得ている。

対象を年齢、性別により、40歳以上男性群、40歳以上女性群、40歳未満男性群、40歳未満女性群の4群に分けたが、今回の対象者では40歳未満男性が0名であったので、以下の検討は3群で行った。

対象者のプロフィールは、①40歳以上男性群は22例、年齢53(42~80)歳、BMI $=27.4 \pm 4.5$ (20.9~35.5)、②40歳以上女性群は30例、年齢53(40~81)歳、BMI $=23.4 \pm 4.2$ (17.1~32.2)、③40歳未満女性群は163例、年齢22(20~39)歳、BMI $=21.0 \pm 2.8$ (15.2~40.0)であった。

血液サンプルは、国家公務員共済組合連合会東海病院、大垣市民病院および名古屋外国語大学・名古屋学芸大学保健管理センターで収集した。

レプチン受容体遺伝子解析は、血液サンプルはQIAamp DNA Blood Mini Kit(QIAGEN, Maryland, USA)を用い、口腔スワブはQIAamp DNA Mini Kit(QIAGEN, Maryland, USA)を用いて遺伝子を抽出し、Polymerase Chain Reaction(PCR)法でKOD Plus(東洋紡績株式会社, 大阪, 日本)を用いて94°C15秒で変性、55°C30秒でアニーリング、68°C40秒で伸長を35サイクル行った。プライマーは、Lys109Argは上流に5'-CACATTGTACAATGGAAGCACAAAGTT-3'下流に5'-TGTTAAATCATAGCCATAAGCATCT-3'、Gln223Argは上流に5'-ACCCTTTAAGCTGGGTGTCCCAAATAG-3'下流に5'-AGCTAGC

AAATATTTTTGTAAGCAATT-3'を用いて目的の遺伝子を増幅した。その後、Lys109Argは High Pure PCR Product Purification Kit (Roche, Mannheim, Germany) を用いて精製し、DTCS(BECKMAN COULTER, California, USA) を用いてダイレクトシーケンス法にて遺伝子多型を検出した。Gln223Argは制限酵素 MspI (NEW ENGLAND BioLabs, MA, USA) を用いた Restriction Fragment Length

Polymorphism (RFLP) 法にて遺伝子多型を検出した⁸⁾。

データは平均±標準偏差で示した。群間の平均値の差の検定には Mann-Whitney の U 検定を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

3 結果 (図1、表1)

40歳以上女性群において、レプチン受容体

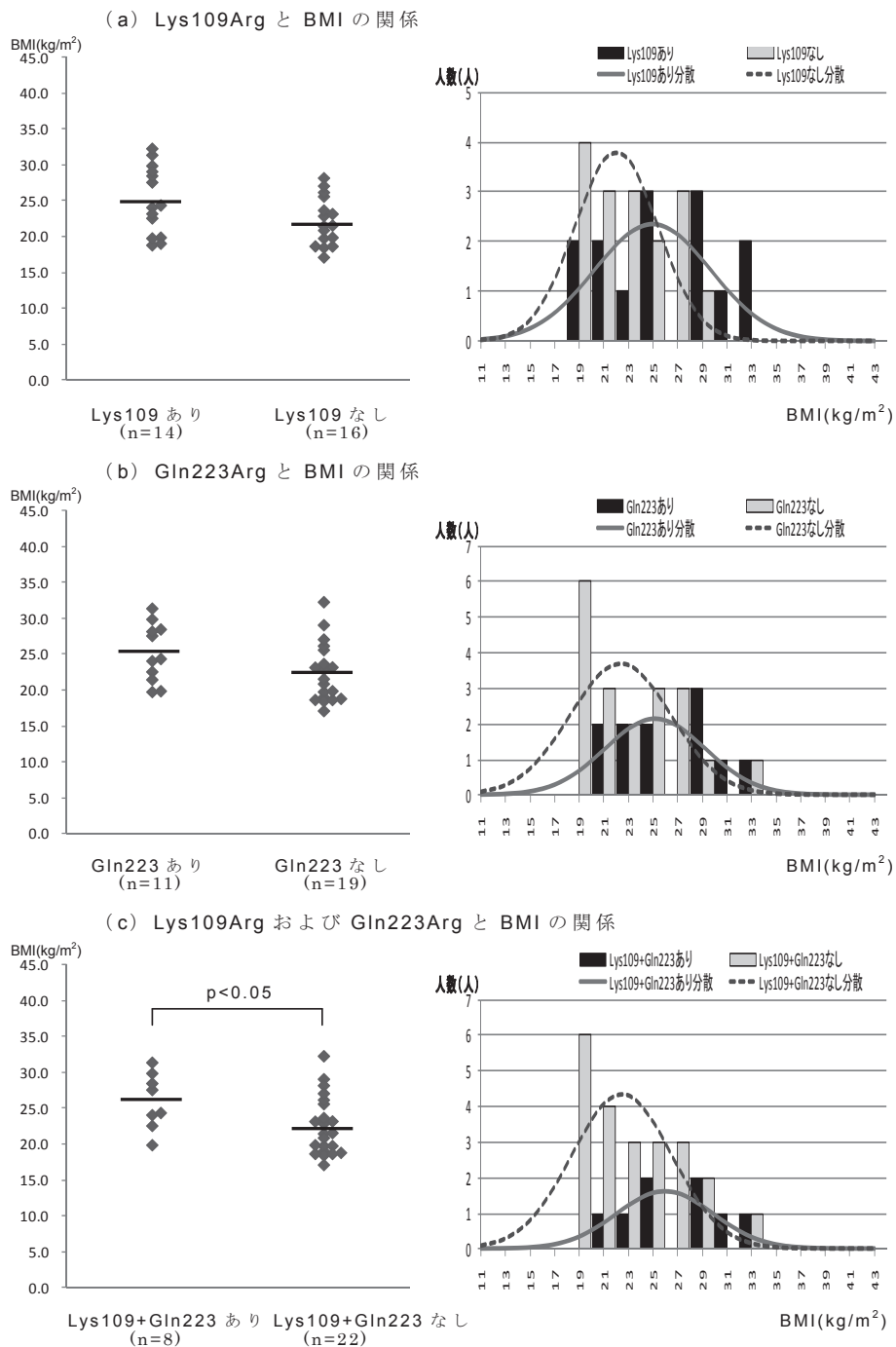


図1 レプチン受容体遺伝子多型と BMI の関係 (40歳以上女性)

表1 レプチン受容体遺伝子多型とBMI

	Lys109 + Gln223 あり	Lys109 + Gln223 なし	※ P Value
40歳以上男性 n=22	27.8 ± 6.2 (21.6~35.4)	27.3 ± 4.1 (20.9~35.5)	P=0.571
40歳以上女性 n=30	26.0 ± 3.9 (19.8~31.1)	22.4 ± 4.0 (17.1~32.2)	P=0.039
40歳未満女性 n=163	20.2 ± 1.9 (16.6~25.4)	21.1 ± 2.9 (15.2~40.0)	P=0.050

※ Mann-Whitney U-test

遺伝子多型 Lys109を持つ者のBMIは 25.0 ± 4.7 (18.8~32.2)、Lys109を持たない者のBMIは 22.0 ± 3.4 (17.1~28.1)であり、2群間で有意差は認められなかった。

Gln223を持つ者のBMIは 25.2 ± 4.1 (19.7~31.3)、Gln223を持たない者のBMIは 22.4 ± 4.1 (17.1~32.2)であり、2群間で有意差は認められなかった。

Lys109およびGln223を併せ持つ者のBMIは 26.0 ± 3.9 (19.8~31.3)、Lys109およびGln223を併せ持たない者のBMIは 22.4 ± 4.0 (17.1~32.2)であり、Lys109およびGln223を併せ持つ者は持たない者に比べて、有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

また、それぞれの分散を図の右側に示した。表1に示すように、40歳以上男性群、40歳未満女性群においても同様の検討を行ったが、複数のレプチン受容体遺伝子多型の有無によるBMIの差は認めなかった。

4 考察

本研究では、中高年女性においてレプチン受容体遺伝子多型 Lys109およびGln223を併せ持つことでBMIが有意に高値を示した。

Park ら⁴⁾は、糖尿病を有していない中高年男女688名(男性308名 女性380名、年齢 64.2 ± 4.2 歳、BMI 23.6 ± 3.1)を対象とした研究においてLys109ホモを持つ者はArg109を持つ者に比べBMIが高い、またGln223ホモを持つ者はArg223を持つ者に比べBMIが高い傾向にあることを報告した。一方、Ogawa ら⁶⁾は、日本人の健康な男性198名(年齢 44.5 ± 9.3 歳、BMI 22.9

± 2.2)健康な女性221名(年齢 41.7 ± 9.7 歳、BMI 20.6 ± 2.4)を対象とした研究において、レプチン受容体遺伝子 Lys109Arg および Gln223Arg の遺伝子多型とBMIには有意な関係は認めないと報告した。

これまでの研究では、1つのレプチン受容体遺伝子多型とレプチン抵抗性の関連を検討したものはあったが、一定の見解は得られていなかった。今回の研究においても、1つのレプチン受容体遺伝子多型を検討した場合は、遺伝子多型の有無によるBMIの有意の差は認めなかったが、Lys109遺伝子多型およびGln223遺伝子多型の両方を併せ持つ者は、併せ持たない者と比較してBMIは有意に高値を示した。レプチン受容体遺伝子にGln223を持つとレプチンとの結合が減少するとの報告⁷⁾があることから、遺伝子多型によるアミノ酸の変化は、レプチン受容体とレプチンとの結合能に変化を与えることが考えられる。そのため、単独の遺伝子多型よりも2つの遺伝子多型を組み合わせることで、レプチン受容体のアミノ酸配列の変化がより大きくなり、レプチン抵抗性との関係が顕著になったと考えられる。

平成12年からスタートした「健康日本21」の目標である「成人の肥満者(BMI ≥ 25)の減少」において、目標値は40~60歳代女性20%以下であるが、平成21年国民健康・栄養調査結果においても未だ達成されていない。平成16年の国民健康・栄養調査によると、メタボリックシンドロームが強く疑われる人と予備群と考えられる人を合わせた割合は、男女とも40歳以上で特に高くなっており、40~74歳の男性の2人に1人、女性の5人に1人が、メタボリック

シンドロームが強く疑われるか予備群と考えられている。

肥満における男女差には性ホルモンの影響が大きい⁹⁾。特に、女性ホルモンであるエストロゲンは、レプチンの分泌を促進し、その作用を誘導する働きがある^{10, 11)}。従って、女性ではレプチンによる体脂肪量調節への寄与が大きいと考えられる。

しかし、レプチンによる体脂肪減少という負のフィードバック機構は、体脂肪蓄積後に顕著に起こるものであり、肥満する前には見られない。基礎代謝の高い若年者においては体脂肪が蓄積しにくく、レプチン受容体遺伝子多型とBMIに関連は認められなかったものと考えられる。

肥満は多因子により生じる現象であり、レプチンのみでその原因を説明することはできない。しかし本研究において、中高年女性においてはレプチン受容体遺伝子多型が肥満の進展に寄与することが示唆された。

5 謝辞

本研究にご協力いただいた名古屋大学総合保健体育科学センター 教授 近藤孝晴先生(現 中部大学教授)、国家公務員共済組合連合会東海病院 永井賢司先生(現 千種ながいクリニック)、大垣市民病院 傍島裕司先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1994; 372: 425-432.
- 2) Hosoda K, Masuzaki H, Ogawa Y, Miyawaki T, Hiraoka J, Hanaoka I, Yasuno A, Nomura T, Fujisawa Y, Yoshimasa Y, Nishi S, Yamori Y, Nakao K: Development of radioimmunoassay for human leptin. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996; 221: 234-239.
- 3) Morrison CD: Leptin resistance and the response to positive energy balance. *Physiol Behav*, 2008; 94: 660-663.
- 4) Park KS, Shin HD, Park BL, Cheong HS, Cho YM, Lee HK, Lee JY, Lee JK, Oh B, Kimm K: Polymorphisms in the leptin receptor (LEPR)—putative association with obesity and T2DM. *J Hum Genet*, 2006; 51: 85-91.
- 5) 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 Relat Metab Disord*, 2001; 25: 714-720.
- 6) 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*, 2004; 53: 879-885.
- 7) Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ, 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*, 2001; 108: 233-236.
- 8) 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*, 1997; 40: 1204-1210.
- 9) Guarnier-Lans V, Rubio-Ruiz ME, Perez-Torres I, Banos de MacCarthy G: Relation of aging and sex hormones to metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Exp Gerontol*, 2011; 46: 517-523.
- 10) Gao Q, Horvath TL: Cross-talk between estrogen and leptin signaling in the hypothalamus. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008; 294: 817-826.
- 11) Shimizu H, Shimomura Y, Nakanishi Y, Futawatari T, Ohtani K, Sato N, Mori M: Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *J Endocrinol*, 1997; 154: 285-292.

Abstract

**Polymorphisms in the leptin receptor gene is associated
with BMI in Japanese elderly women**

Shiho Kondo^{*}, Eri Kondo^{}, Hisami Ida^{**}, Yumi Tanaka^{**},
Nozomi Fukazawa^{**}, Akiko Yamamoto^{*}, Hiroshi Ishiguro^{*},
Motoji Kitagawa^{**} and Kotoyo Fujiki^{**}**

Leptin in the hypothalamus plays a critical role in maintaining normal food intake and body weight. Although hyperleptinemia is associated with obesity, the mechanism is not clearly understood. Genetic variation at the leptin receptor gene may play an important role in the obesity. Therefore we examined the relationship between polymorphism (Lys109Arg, Gln223Arg) and the body mass index (BMI) in healthy Japanese subjects. In the elderly women the genotype of Lys109 plus Gln223 was associated with BMI.

^{*} Nagoya University Graduate School of Medicine
^{**} School of Nutritional Sciences, Nagoya University of Arts and Sciences