



# Association of serum MCP-1 concentration and MCP-1 polymorphism with insulin resistance in Japanese individuals with obese type 2 diabetes

Kouyama, Kunichi

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2008-03-25

(Date of Publication)

2012-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲4326

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004326>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏 名 鴻山 訓一  
博士の専攻分野の名称 博士（医学）  
学 位 記 番 号 博い第 1926 号  
学位授与の要件 学位規則第 5 条第 1 項該当  
学位授与の日付 平成 20 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Association of serum MCP-1 concentration and MCP-1 polymorphism with insulin resistance in Japanese individuals with obese type 2 diabetes (日本人肥満 2 型糖尿病患者における血中 MCP-1 濃度および MCP-1 遺伝子多型とインスリン抵抗性との関連解析)

審 査 委 員

主 査 教 授 平田 健一  
教 授 松尾 雅文  
教 授 南 康博

はじめに

2型糖尿病の発症には、インスリン分泌能の低下やインスリン抵抗性が関与している。2型糖尿病の60%から90%は肥満や体重増加との関係がみられ、インスリン抵抗性は肥満やメタボリックシンドロームを伴う2型糖尿病に認められる。レプチン、アディポネクティン、retinol-binding protein 4 (RBP4)、MCP-1といったアディポサイトカインは脂肪細胞から分泌され、肥満に伴うインスリン抵抗性に関与することが知られている。

MCP-1は各種の炎症性刺激により産生されるケモカインの一種で、近年高グルコースやインスリン刺激、肥満による発現や分泌の増加、また動脈硬化やインスリン抵抗性、2型DMとの関連も報告されている。LDLレセプター欠損マウスにおけるMCP-1の欠如は、動脈硬化疾患の重症度を減少させていた。また我々の教室や他施設での報告では、MCP-1トランスジェニックマウスの脂肪細胞においてインスリン抵抗性が認められ、また脂肪細胞でのマクロファージ浸入や肝臓でのトリグリセライド含有量の増加が認められた。肥満マウスの脂肪細胞においてMCP-1遺伝子発現は増加しており、MCP-1欠損マウスにおいて、インスリン抵抗性、脂肪細胞におけるマクロファージ浸入や脂肪肝を減少させることが示された。また最近の報告ではヒトにおいて血中MCP-1濃度とHOMA-IRやBMIといった肥満やインスリン抵抗性の指標と正の相関を認めている。MCP-1遺伝子-2518A/G多型は、MCP-1の転写活性に影響を及ぼすことが報告されている。続いてこの多型は2型糖尿病、インスリン抵抗性、1型糖尿病、心血管疾患との関連が報告された。しかしながら、これらの関連には、まだ議論の余地がある。これらの結果は主にマウスにおける研究に基づいたものであるため、今回我々はMCP-1遺伝子多型を調べ、日本人2型糖尿病患者における疾患感受性、インスリン抵抗性や体内脂肪分布などの臨床的指標との関連を検討した。

## 方法

763人の2型糖尿病患者と361人の非糖尿病対照者を対象とした。これらすべて日本人であり、2型糖尿病患者は1997年の米国糖尿病学会の基準によって診断され、非糖尿病対照者は60歳以上で耐糖能異常を指摘されたことがなく、HbA1cが5.6%以下、糖尿病の家族歴を認めないことを条件とした(Table1)。インスリン治療を行っていない2型糖尿病患者104人(男性60人、女性44人)については、さらに詳細な臨床的指標を評価した(Table2)。なお対象者は、書

面による同意をした後、研究に参加した。またこの研究は、神戸大学医学部の倫理委員会の承認を得ている。

空腹時血糖(FPG)、空腹時血清インスリン濃度(FIRI)、血清脂質濃度、HbA1cの臨床パラメーターは、血清より測定した。血中MCP-1濃度は、R&D社のキットを用いて測定した。HOMA-IR(homeostasis model assessment for insulin resistance;  $[FPG \text{ (mmol l}^{-1}) \times FIRI \text{ (}\mu\text{U ml}^{-1})] / 22.5$ )やグルコースクランプ法を用いたGIR(glucose infusion rate)でインスリン抵抗性を評価し、NMR(nuclear magnetic resonance)を用いて皮下脂肪、内臓脂肪、肝細胞内脂肪含量(HLC)、骨格筋内脂肪含量(IMCL)を評価した。

また、肥満群(BMI25以上)と非肥満群(BMI25未満)にわけて、サブ解析を行った。

対象者のDNAはQIA amp DNA Blood Maxi Kitをもちいて血液より抽出した。MCP-1遺伝子のPromoter領域(上流-2650~-2154bpと-493~bp)、3つのExonとその周囲を、PCR Direct Sequencing法を用いて2型糖尿病128例で遺伝子多型の検索を行った(Table3)。同定された一塩基多型(SNP)を、PCR Direct Sequencing法あるいはfluorescence- or colorimetry-based allele-specific DNA primer probe assay system (ASP-PCR)法でタイピングした。

関連解析、連鎖不平衡解析およびハプロタイプ解析は、SNPalyze version 5.1 Pro softwareを用いて行った。関連は $\chi^2$ 検定により評価し、連鎖不平衡は2型糖尿病患者128人のタイピング結果をD'により評価した。遺伝子型およびハプロタイプについての、臨床パラメーターの群間比較はStat-View program(version 5.0-J)を用い、Mann-Whitney U testにより評価した。P<0.05を統計的に有意と判断した。

## 結果

糖尿病患者104人で血中MCP-1濃度と臨床的指標との関連を検討した(Table4)。血中MCP-1濃度はHOMA-IR( $r=0.300, p=0.002$ )、内臓脂肪( $r=0.312, p=0.002$ )と有意な正相関を認めた。BMI( $r=0.106, p=0.291$ )、GIR、骨格筋内脂肪含量、肝細胞内脂肪含量、皮下脂肪とは相関を認めなかった。肥満、非肥満で分けたサブ解析では、肥満2型糖尿病群において血中MCP-1濃度とHOMA-IRの相関はさらに強く認められた(肥満群: $r=0.347$ 、非肥満群: $r=0.122$ )。

2型糖尿病128例で遺伝子多型の検索を行ったところ、6SNPを同定したが、

アミノ酸変異を伴う cSNP は認めなかった。2SNP (-2515A/G、-2348G/C) はアリル頻度が 5%以下であったので除外し、残りの 4SNP (-2518A/G、-299C/G、+964C/T、+1606T/C) を用いて連鎖不平衡 (LD) ブロックを作成したところ、これらは強い連鎖不平衡を認めた (Table5、Fig1)。これら 4SNP とも Hardy-Weinberg 平衡を満たしていた。4SNP の中で、すでに Caucasian において 2 型糖尿病との関連を報告され、MCP-1 遺伝子遠位調節部位である -2518A/G 多型に注目して解析を行った。1124 人 (2 型糖尿病 763 人、非糖尿病対照者 361 人) の SNP タイピングを行い、2 型糖尿病との疾患感受性関連解析を行ったが、有意な関連を認めなかった (Table5)。また -2518A アリルの頻度は、日本人が 35.3%であるのに対し Caucasian において 64~73%であることを見出した。

2 型糖尿病患者 104 例を用いて、-2518A/G 多型の臨床的指標に及ぼす影響を検討した (Table6)。-2518A/G 多型は、血中 MCP-1 濃度と有意な関連を認めた (GG+AG 294 ± 98 pg/mL vs AA 373 ± 119 pg/mL,  $p = 0.038$ )。また肥満 2 型糖尿病患者におけるサブ解析では、血中 MCP-1 濃度 (GG+AG 305 ± 107 pg/mL vs AA 396 ± 118 pg/mL,  $p = 0.045$ ) や GIR (GG+AG 5.25 ± 1.71 mg/kg/min vs AA 3.96 ± 0.78 mg/kg/min,  $p = 0.025$ ) と有意な関連を認めた。これらの結果より、肥満 2 型糖尿病患者 -2518AA 保有者は -2518G 保有者に比べて血中 MCP-1 濃度が高く、インスリン抵抗性が増加することが示唆された。

## 考察

今回の検討では、日本人 2 型糖尿病患者において血中 MCP-1 濃度は内臓脂肪と有意な正相関を認めたが、BMI とは相関を認めなかった。これはイタリア人の肥満非糖尿病女性における報告と同様の結果であった。ヒトの培養脂肪組織を用いた研究では、皮下脂肪よりも内臓脂肪での MCP-1 放出量が高値であった。また我々の研究室での検討では、MCP-1 ノックアウトマウスにおいて高脂肪食負荷によって引き起こされるインスリン抵抗性や脂肪肝が減少していた。これらの報告から、内臓脂肪から放出される MCP-1 は、主に肥満に伴う肝臓におけるインスリン感受性に影響を及ぼすと考えられた。実際、今回の検討において血中 MCP-1 濃度は、肝臓におけるインスリン感受性として測定される HOMA-IR と有意な正相関を認めた。そしてサブ解析において、日本人の肥満 2 型糖尿病群が非肥満 2 型糖尿病群に比べより強い相関を認めた。肥満韓国人やイタリア人においても同様に血中 MCP-1 濃度と HOMA-IR との相関が報告されており、我々

のデータと合わせて主に内臓脂肪から放出される MCP-1 は、特に肝臓におけるインスリン抵抗性のメカニズムに関係していることが示唆された。

我々の検討では、日本人糖尿病患者において MCP-1-2518AA 保有者は有意に血中 MCP-1 濃度が高く、肥満群でさらに上昇することを見出した。このことは MCP-1-2518A アリルが内臓脂肪において MCP-1 の分泌を増加させるかもしれないことを示唆している。この結果は、以前に報告された Caucasian の検討で、MCP-1-2518A アリルが有意に血中 MCP-1 濃度が高値であることと一致している。MCP-1-2518A/G 多型は Caucasian において 2 型糖尿病や 1 型糖尿病との関連を報告されているが、今回の検討では日本人において関連を認めなかった。この多型と糖尿病の疾患感受性や血中 MCP-1 濃度との関連について、今後さらにさまざまな人種集団における検討が必要である。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 1927 号	氏 名	鴻山 訓一
論文題目 Title of Dissertation	Association of serum MCP-1 concentration and <i>MCP-1</i> polymorphism with insulin resistance in Japanese individuals with obese type 2 diabetes  日本人肥満 2 型糖尿病患者における血中 MCP-1 濃度および MCP-1 遺伝子多型とインスリン抵抗性との関連解析		
審査委員 Examiner	主 査 平田 健一 Chief Examiner 副 査 松尾 雅文 Vice-examiner 副 査 南 康博 Vice-examiner		
審査修了日	平成 20 年 2 月 20 日		

(要旨は 1,000 字～2,000 字程度)

2 型糖尿病の発症には、インスリン分泌能の低下やインスリン抵抗性が関与している。インスリン抵抗性は肥満やメタボリックシンドロームを伴う 2 型糖尿病に認められる。MCP-1 は各種の炎症性刺激により産生されるケモカインの一種で、近年高グルコースやインスリン刺激、肥満による発現や分泌の増加、また動脈硬化やインスリン抵抗性、2 型 DM との関連も報告されている。また最近の報告ではヒトにおいて血中 MCP-1 濃度と HOMA-IR や BMI といった肥満やインスリン抵抗性の指標と正の相関を認めている。

申請者は MCP-1 遺伝子多型を調べ、日本人 2 型糖尿病患者における疾患感受性、インスリン抵抗性や体内脂肪分布などの臨床的指標との関連を検討した。763 人の日本人 2 型糖尿病患者と 361 人の非糖尿病対照者を対象とし、インスリン治療を行っていない 2 型糖尿病患者 104 人（男性 60 人、女性 44 人）について HOMA-IR (homeostasis model assessment for insulin resistance) やグルコースクランプ法を用いた GIR (glucose infusion rate) でインスリン抵抗性を評価し、NMR (nuclear magnetic resonance) を用いて皮下脂肪、内臓脂肪、肝細胞内脂肪含量 (HLC)、骨格筋内脂肪含量 (IMCL) を評価した。また、肥満群 (BMI25 以上) と非肥満群 (BMI25 未満) にわけて、サブ解析を行った。

本研究では、血中 MCP-1 濃度は HOMA-IR、内臓脂肪と有意な正相関を認め、肥満 2 型糖尿病群において血中 MCP-1 濃度と HOMA-IR の相関はさらに強く認められた。2 型糖尿病 128 例で遺伝子多型の検索を行ったところ、6SNP を同定し、その中で、MCP-1 遺伝子遠位調節部位である -2518A/G 多型に注目して解析を行ない、2 型糖尿病との疾患感受性関連解析を行ったが、有意な関連を認めなかった。また -2518A アリルの頻度は、日本人が 35.3%であるのに対し Caucasian に

において 64～73%であることを見出した。2 型糖尿病患者 104 例を用いて、-2518A/G 多型の臨床的指標に及ぼす影響を検討し、-2518A/G 多型は、血中 MCP-1 濃度と有意な関連を認めた。また肥満 2 型糖尿病患者におけるサブ解析では、血中 MCP-1 濃度や GIR と有意な関連を認めた。これらの結果より、肥満 2 型糖尿病患者-2518AA 保有者は-2518G 保有者に比べて血中 MCP-1 濃度が高く、インスリン抵抗性が増加することが示した。

本研究は、日本人糖尿病患者において MCP-1-2518AA 保有者は有意に血中 MCP-1 濃度が高く、肥満群でさらに上昇することを示した。このことは MCP-1-2518A アリルが内臓脂肪において MCP-1 の分泌を増加させる可能性を示したものであり、価値があると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。