

氏名	まつ 松	おか 岡	なお 直	き 樹
学位(専攻分野)	博士(医学)			
学位記番号	医博第2038号			
学位授与の日付	平成10年5月25日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
研究科・専攻	医学研究科分子医学系専攻			
学位論文題目	Human leptin receptor gene in obese Japanese subjects:evidence against either obesity-causing mutations or association of sequence variants with obesity (日本人肥満者におけるヒトのレプチン受容体遺伝子に関する研究:肥満の病因となる遺伝子変異および肥満と連関する遺伝子多型の欠如) (主査)			
論文調査委員	教授 清野 裕	教授 北 徹	教授 中尾 一和	

### 論文内容の要旨

肥満遺伝子産物であるレプチンは、脂肪細胞より循環血液中に分泌され、主として視床下部に存在するレプチン受容体を介して摂食抑制作用とエネルギー代謝亢進作用を発現し、体重増加や肥満の進展の制御に関与すると考えられている。遺伝性肥満モデルマウスである *ob/ob* マウスでは、肥満遺伝子のナンセンス変異が肥満の原因であることが証明され、またヒトの先天性肥満の一家系でも肥満遺伝子異常が原因であることが証明されている。一方、レプチン受容体は膜一回貫通型クラスI サイトカイン受容体スーパーファミリーに属し、選択的スプライシングにより生ずる少なくとも6種類のアイソフォーム (*Ob-Ra~f*) の存在が知られている。このうち細胞内領域の最も長い *Ob-Rb* はレプチンの生物作用の発現に関与すると考えられており、遺伝性肥満モデル動物である *db/db* マウス、Zucker肥満 (*fa/fa*) ラット、あるいは肥満高血圧自然発症 Koletsky (*fa<sup>k</sup>/fa<sup>k</sup>*) ラットで遺伝子変異が認められ、レプチン受容体遺伝子変異が肥満の病因であることが証明されている。

本研究では、レプチン受容体遺伝子がヒトの肥満の成因と関わりがあるか否かを明らかにする目的で、日本人肥満者において *Ob-Rb* 遺伝子変異の有無を検討した。更に、遺伝子多型と肥満との連関の有無についても検討した。

家族歴の濃厚な日本人高度肥満者17名 (BMI  $39.3 \pm 8.4 \text{ kg/m}^2$ , 年齢  $32.6 \pm 1.3$  歳) より染色体DNAを抽出し、それを鋳型としてPCR法によりヒト *Ob-Rb* 遺伝子の全翻訳領域を含むエクソン2からエクソン20を増幅した。直接シーケンス法にて塩基配列を決定し、既報のヒトのレプチン受容体遺伝子配列 (GENBANK; U59247-U59263) と比較することにより、7箇所の遺伝子多型を認めた。そのうち5箇所の遺伝子多型 (Lys109Arg, Gln223Arg, Ser492Thr, Lys656Asn, Ala976Asp) はアミノ酸置換を伴うものであり、コドン109, 223, 492, 656は細胞外領域に、コドン976は細胞内領域に位置するものであった。アミノ酸置換を伴わないものとしてはSer343SerとPro1019Proが認められた。Zucker肥満ラットやKoletskyラットにおいて報告されているミスセンス変異 (*fa*: Gln269Pro) やナンセンス変異 (*fa<sup>k</sup>*: Tyr763stop), あるいは細胞外領域のリガンド結合に関与する2つのサイトカインモチーフ (GXWSXWS) や細胞内領域のJAK/STAT作用部位であるBox 1, 2, 3における遺伝子変異は認められなかった。

47名の肥満群 (最大BMI > 30; BMI  $35.1 \pm 6.5 \text{ kg/m}^2$ , 年齢  $41.9 \pm 16.6$  歳) と68名の非肥満群 (最大BMI < 25; BMI  $21.6 \pm 2.2 \text{ kg/m}^2$ , 年齢  $45.9 \pm 8.0$  歳) において、コドン223, 492, 976, 1019においてはPCR-RFLP法にて、コドン109, 343, 656においてはPCR-SSCP法にて遺伝子型を決定し、アレル頻度を比較検討した。いずれのレプチン受容体遺伝子多型についても肥満群と非肥満群の間においてアレル頻度に有意差を認めなかった。以上より、今回同定されたレプチン受容体遺伝子多型と日本人肥満との間に強い連関はないことが明らかとなった。

本研究は、日本人におけるレプチン受容体遺伝子多型に関する最初の報告であり、今後の肥満研究および肥満の病因の検

索に重要な知見をもたらすものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

肥満遺伝子産物であるレプチンは、脂肪細胞より血液中に分泌され、視床下部に存在するレプチン受容体を介してエネルギー代謝の制御に関与すると考えられている。レプチン受容体は膜一回貫通型クラスI サイトカイン受容体に属し、複数の遺伝性肥満モデル動物において遺伝子変異が認められ、これが肥満の病因であることが証明されている。

本研究では、レプチン受容体遺伝子のヒト肥満の成因との関わりを明らかにする目的で、日本人肥満者においてレプチン受容体遺伝子変異の有無と、遺伝子多型と肥満との関連の有無を検討した。日本人高度肥満者のレプチン受容体遺伝子全翻訳領域の塩基配列を決定し、7箇所の遺伝子多型を認めた。また、肥満群と非肥満群において、各々の遺伝子多型のアليل頻度を比較したところ、いずれの遺伝子多型についても肥満群と非肥満群の間においてアليل頻度に有意差を認めなかった。

以上より、今回同定されたレプチン受容体遺伝子多型と日本人肥満との間に強い関連はないことが明らかとなった。本研究は、日本人におけるレプチン受容体遺伝子多型に関する最初の報告であり、今後の肥満研究および肥満の病因の検索に重要な知見をもたらすものと考えられた。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成10年4月30日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。