

原著

## Uncoupling Protein 2 の新たな遺伝子多型の 検出と肥満との関係について

棟方栄治<sup>1,2)</sup> 土田成紀<sup>1)</sup>

**抄録** 肥満の候補遺伝子であるアンカッピングプロテイン2の第8エクソンの3'末端側の非翻訳領域に存在する遺伝子多型を健康な日本人の成人男性について検討したところ、コーカシア人に報告されている412 bpのdeletion型は認めず、457 bpのinsertion型が主要な遺伝子型であった。457 bpのinsertion型に45 bpがさらに挿入された502 bpの新しい遺伝子型を見出した。検索した18例中457/457のホモ接合体が14例、457/502のヘテロ接合体が4例であり、502/502のホモ接合体は観察されなかった。

上記の18例について、このアンカッピングプロテイン2の遺伝子多型と体重、体格指数(BMI)、上腕三頭筋と側腹部での皮下脂肪の厚さ、安静時代謝率(RMR)、脂肪率及び脂肪量との関係を検討した。年齢は27歳から58歳、体重は58.2 kgから99.2 kgに分布した。Mann-WhitneyのU検定により、457/502型の人々は457/457型の人より、体重、上腕三頭筋と側腹部の皮下脂肪の厚さ、脂肪率及び脂肪量が有意に高く、502 bpの新規遺伝子型は肥満に関与する可能性が示唆された。

弘前医学 57:35-42, 2005

**キーワード:** アンカッピングプロテイン2;  $\beta$ 3-アドレナリンリセプター; 遺伝子多型; 肥満。

ORIGINAL ARTICLE

## DEMONSTRATION OF A NEW GENOTYPE ENCODING UNCOUPLING PROTEIN 2 AND ASSOCIATION WITH OBESITY

Eiji Munakata<sup>1,2)</sup> and Shigeki Tsuchida<sup>2)</sup>

**Abstract** Uncoupling protein 2 (UCP2), mapped to chromosome 11q13 in humans, plays an important role in energy metabolism and body weight regulation. Some positive results have been reported for associations of obesity and diabetes in Caucasians with the polymorphism of the UCP2 gene in the 3'-untranslated region (3' UTR) of exon 8 (insertion and deletion types). We examined the genotypes of adult men in Aomori Prefecture situated in northern Japan, in order to investigate associations between the polymorphism and obesity. In the present study, in addition to the insertion type of 457 bp, a new genotype composed of 502 bp was detected, while the deletion type of 412 bp was not. Although the sequence of inserted 45 bp in the 457 bp type was entirely identical to that reported previously, the fragment was inserted at the 111 bp from the 3' end of the exon 8. In the 502 bp type, the same fragment was further added to the 457 bp type. The new genotype was observed in 4 of 18 subjects as the 457/502 heterozygote and other subjects were the 457/457 homozygote.

Significant associations were found between the polymorphism of UCP2 gene and obesity in adult Japanese men. Weight, thicknesses of the subcutaneous adipose tissues at triceps and lateral abdomen, fat percentage and fatmass were significantly higher ( $p < 0.05$ ) in subjects with the heterozygote (457/502) than in subjects with the homozygote (457/457). These results suggest that a new genotype (502 bp) is involved in obesity.

Hirosaki Med. J. 57:35-42, 2005

**Key words:** uncoupling protein 2;  $\beta$ 3-adrenergic receptor; DNA polymorphism; obesity.

<sup>1)</sup> Second Department of Biochemistry, Hirosaki University School of Medicine

<sup>2)</sup> Scientific Investigation Laboratory, Aomori Prefectural Police Headquarters  
Correspondence: S.Tsuchida

Received for publication, May 2, 2005

Accepted for publication, June 23, 2005

<sup>1)</sup> 国立大学法人弘前大学医学部医学科生化学第二講座

<sup>2)</sup> 青森県警察本部科学捜査研究所

別刷請求先: 土田成紀

平成17年5月2日受付

平成17年6月23日受理

## 結 言

ミトコンドリア内膜に存在するアンカカップリング蛋白質 (UCP) は熱産生に重要な働きをしており, 褐色脂肪細胞に発現する UCP1, 骨格筋, 白色脂肪細胞, 肺, 心臓などに広く発現する UCP2 及び骨格筋に主として発現する UCP3 の 3 種類の存在が知られている. UCP2 及び UCP3 遺伝子はヒト 11 番染色体 11q13 に近接して存在しており, コーカシア人では UCP2 遺伝子の第 8 エクソンの 3' 末端の非翻訳領域 (3' UTR) に 45 bp の挿入を持つ遺伝子型 (insertion 型, 457 bp 型) と欠失する遺伝子型 (deletion 型, 412 bp 型) の 2 種類の多型が存在し, 肥満との関連が示唆されているが<sup>1)</sup>, 本邦においては UCP2 遺伝子多型の頻度, 肥満との関連は明らかではない.

白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞に発現する  $\beta$ 3-アドレナリンレセプター (ADRB3) は脂肪代謝と熱産生に関与していると考えられており, 肥満の候補遺伝子である. ADRB3 には 64 番目のアミノ酸残基がトリプトファンの遺伝子型 (Trp 型) とアルギニンの遺伝子型 (Arg 型) が知られており, 外国人集団においては Arg 型の遺伝子型と肥満及びインシュリン非依存性糖尿病との間に有意な相関が報告されている<sup>2~5)</sup>.

平成 16 年度学校統計調査結果概要によれば, 青森県の児童, 生徒の身長, 体重などの体格は日本国内の上位に位置し, 特に体重は男子で小学生から高校生の 7 学年で, 女子でも 6 学年で 1 位を占めている. 青森県成人の体格も上位に位置していると考えられる.

今回, 青森県在住の成人男性について, UCP2 第 8 エクソンの 3' UTR の遺伝子多型を検索し, コーカシア人などでこれまでに報告されている deletion 型は検出されず, 代わって, これまで報告のない新たな遺伝子型を見出し, コーカシア人とは遺伝子型が著しく異なることを明らかにした. さらにこれらの遺伝子型と体重, 肥満などとの関係を検討した.

## 材料と方法

### (1) 試料及び DNA 抽出

インフォームドコンセントが得られた, 血縁関

係が無い青森県内の自治体に勤務する男性職員 18 名 (平均年齢 44.8  $\pm$  8.5) から口腔内細胞の提供を受けた. この試料から QIAamp DNA Micro Kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出した.

本研究は国立大学法人弘前大学医学部倫理委員会の承認を得ている.

### (2) UCP2 の遺伝子型の判定

UCP2 の第 8 エクソンの 3' UTR 領域の多型は Walder ら<sup>1)</sup> の報告に従い, プライマーは Forward:5'-CAGTGAGGGAAGTGGGAGG-3', Reverse:5'-GGGGCAGGACGAAGATTC-3' を用いて PCR を行い検索した. PCR 反応液は終濃度で, 10 mM Tri-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M dNTPs, 0.1 U/ $\mu$ l Taq Polymerase (Takara, 滋賀), プライマーはそれぞれ 10 pmol/ $\mu$ l, DNA を 5 ng 添加し, 全量 25  $\mu$ l の反応系で行った. サーマルサイクラーとして PJ480 (パーキンエルマー) を用いて, denature 94  $^{\circ}$ C 1 分, annealing 66  $^{\circ}$ C 30 秒, extension 72  $^{\circ}$ C 30 秒を 32 サイクル行い, postextension として, 72  $^{\circ}$ C 7 分を追加し, 目的とする部位を増幅した.

この PCR 産物は 2 % アガロースゲルで 100 V で 40 分間電気泳動後, エチジウムブロミドで染色し遺伝子型を判定した.

### (3) ADRB3 の遺伝子型の判定

ADRB3 の 64 番目 Trp と Arg の遺伝子多型は PCR-RFLP 法 (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) で行った. プライマーは Clement ら<sup>2)</sup> の報告に従い, Forward:5'-CCAGTGGGCTGCCAGGGG-3', Reverse:5'-GCCAGTGGCGCCCAACGG-3' を用いて, Trp64Arg の多型部分を含む 248bp を増幅した. PCR 反応液は終濃度で 10 mM Tri-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M dNTPs, 0.1 U/ $\mu$ l Taq Polymerase (Takara), プライマーはそれぞれ 10 pmol/ $\mu$ l, DNA を 5 ng 添加し, 全量 25  $\mu$ l の反応系で行った. Denature 94  $^{\circ}$ C 1 分, annealing と extension 72  $^{\circ}$ C 1 分を 1 サイクルとして 32 サイクル行い, postextension として 72  $^{\circ}$ C 7 分を追加し, 目的とする部位を増幅した.

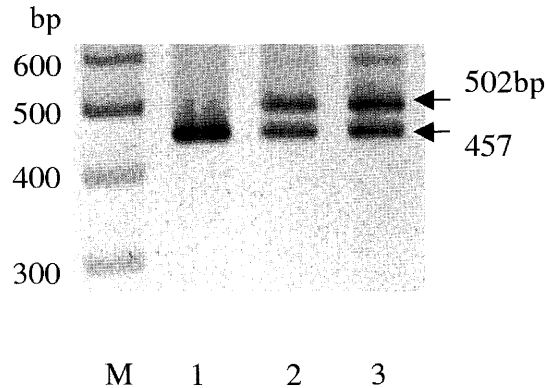


図1 アンカッピングプロテイン(UCP) 2 遺伝子の第8エクソン3' UTRのPCR産物の2%アガロース電気泳動像。レーン1は457 bpのバンドのみを与え、レーン2, 3は457 bpと502 bpの2本のバンドを与えた。MはDNAマーカーを示す。

得られたPCR産物5  $\mu$ lに制限酵素 *Msp* Iを5 U加え全量を10  $\mu$ lとし、37°Cで2時間反応させた。この反応液を10%ポリアクリルアミドゲルで400 Vで1時間電気泳動後、エチジウムブロミドで染色し遺伝子型を判定した。

#### (4) UCP2 遺伝子の塩基配列の決定

457/502型のヘテロ接合体の457 bpと502 bpのバンドの塩基配列を決定するために、アガロース電気泳動後、バンドを切り出してMinElute Gel Extraction Kit (QIAGEN)で精製し、BigDye Terminators v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)を用いて、両側からダイレクトシーケンスを実施した。併せて、457/457型のホモ接合体についても、ダイレクトシーケンスを行った。

#### (5) 肥満の評価

被験者の身長(m)、体重(kg)及び体格指数(BMI)を測定した。BMIは体重(kg)を身長(m)の2乗で割り算して算出した。皮下脂肪の厚さ(mm)は上腕三頭筋と側腹部の部位でデジマチックマイクロメーター(Mitutoyo, 東京)を用いて計測し、1/2の数値を用いた。脂肪量は体重に脂肪率を掛けて算出し、脂肪率は脂肪計(TANITA TBF-305, 東京)で測定した。また、安静時代謝率(RMR)は以下に示すHarrisとBenedictの式に基づいて算出した。RMR(kcal/day) = 66 +

(13.7  $\times$  W) + (5  $\times$  H) - (6.8  $\times$  A) W:体重(kg), H:身長(cm), A:年齢(歳)

#### (6) 統計学的解析

*ADRB3*の多型あるいはUCP2の多型と被験者の身長、体重、BMI、皮下脂肪の厚さ、RMR、脂肪率及び脂肪量との相関性について、Mann-WhitneyのU検定(両側検定)を行い、 $p < 0.05$ の場合を有意差ありと判定した。

## 結 果

#### (1) UCP2の新しい遺伝子型

UCP2における第8エクソンの3' UTRに存在する45 bpのinsertion/deletionの遺伝子多型を検討したところ、これまで報告されている412 bp(deletion型)と457 bp(insertion型)の2本ではなく457 bpと約500 bpの2本のバンドを認め、412 bpのバンドは検出されなかった(図1)。これらのバンドとこれまで報告されている遺伝子型との異同を明らかにするために、ダイレクトシーケンシングにより塩基配列を調べた。457 bpのバンドにはストップコドンの3'末端から111 bp下流の部位に、CCCACCTCTTCCTCCGCTCCTTTACCTACCACCTTCCCTCTTTCの45 bpのinsertionが確認され、これまで報告されているinsertion型の457 bpのバンドと同じであった。約500 bpのバンドは、insertion型

## A

```

412bp -60:TATGAGCAGC TGAAACGAGC CCTCATGGCT GCCTGCACCT CCCGAGAGGC TCCCTTCTGA
457bp -60:TATGAGCAGC TGAAACGAGC CCTCATGGCT GCCTGCACCT CCCGAGAGGC TCCCTTCTGA
502bp -60:TATGAGCAGC TGAAACGAGC CCTCATGGCT GCCTGCACCT CCCGAGAGGC TCCCTTCTGA

412bp 1:GCCTCTCCTG CTGCTGACCT GATCACCTCT GGCTTTGTCT CTAGCCGGGC CATGCTTTCC
457bp 1:GCCTCTCCTG CTGCTGACCT GATCACCTCT GGCTTTGTCT CTAGCCGGGC CATGCTTTCC
502bp 1:GCCTCTCCTG CTGCTGACCT GATCACCTCT GGCTTTGTCT CTAGCCGGGC CATGCTTTCC

412bp 61:TTTCTTCCT TCTTTCTCTT CCCTCCTTCC CTTCTCTCCT TCCCTCTTTC -----
457bp 61:TTTCTTCCT TCTTTCTCTT CCCTCCTTCC CTTCTCTCCT TCCCTCTTTC CCCACCTTTC
502bp 61:TTTCTTCCT TCTTTCTCTT CCCTCCTTCC CTTCTCTCCT TCCCTCTTTC CCCACCTTTC

412bp 121:-----
457bp 121:CCTTCGCTC CTTACCTAC CACCTCCCT CTTTC-----
502bp 121:CCTTCGCTC CTTACCTAC CACCTCCCT CTTCCCCAC CTCTTCCTC CGCTCCTTA

412bp 181:-----
457bp 181:-----
502bp 181:CCTACCACCT TCCCTCTTTC TACATTCTCA TCTACTCATT GTCTCAGTGC TGGTGGAGTT

412bp 241:GACATTTGAC AGTGTGGGAG GCCTCGTACC AGCCAGGATC CCAAGCGTCC CGTCCCTTGG
457bp 241:GACATTTGAC AGTGTGGGAG GCCTCGTACC AGCCAGGATC CCAAGCGTCC CGTCCCTTGG
502bp 241:GACATTTGAC AGTGTGGGAG GCCTCGTACC AGCCAGGATC CCAAGCGTCC CGTCCCTTGG

412bp 301:AAAGTTCAGC CAGAATCTTC GTCCTGCCCC
457bp 301:AAAGTTCAGC CAGAATCTTC GTCCTGCCCC
502bp 301:AAAGTTCAGC CAGAATCTTC GTCCTGCCCC

```

## B

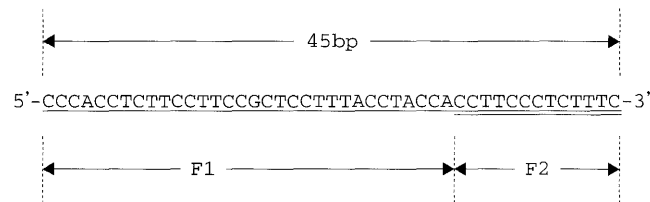


図2 UCP2 遺伝子型の塩基配列. パネルAはUCP2 遺伝子のストップコドン(太字のTGA)から第8エクソンの3' UTRの塩基配列を示した. 412 bp アレルの配列は Walder et al. (Hum Mol Genet 1998;7:1431-5) から引用した. 457 bp アレルと 502 bp アレルの塩基配列は今回のダイレクトシーケンシングの結果による. イタリック文字は deletion 型 (412 bp) に挿入された塩基配列を示し, 波線部分は PCR に用いた primer に相補的な配列を示す. 1 本線の下線部分と 2 本線の下線部分は挿入された 45 bp を構成する F1 と F2 と名付けた部位の塩基配列を示した. パネルBは挿入された 45 bp と F1, F2 の関係を示した.

の 457 bp に, さらにもう 1 個の 45 bp が挿入されたものと判明した (図 2). よって, 500 bp 付近のバンドは正確には 502 bp であり, これまでに報告のない新規の遺伝子型と考えられた.

さらに, この周辺の塩基配列を詳細に検討したところ, 挿入されている 45 bp は, CCCACCTCTTCCTTCCGCTCCTTTACCTACCA の 32 bp からなる F1 と, CCTTCCCTCTTTC の 13 bp

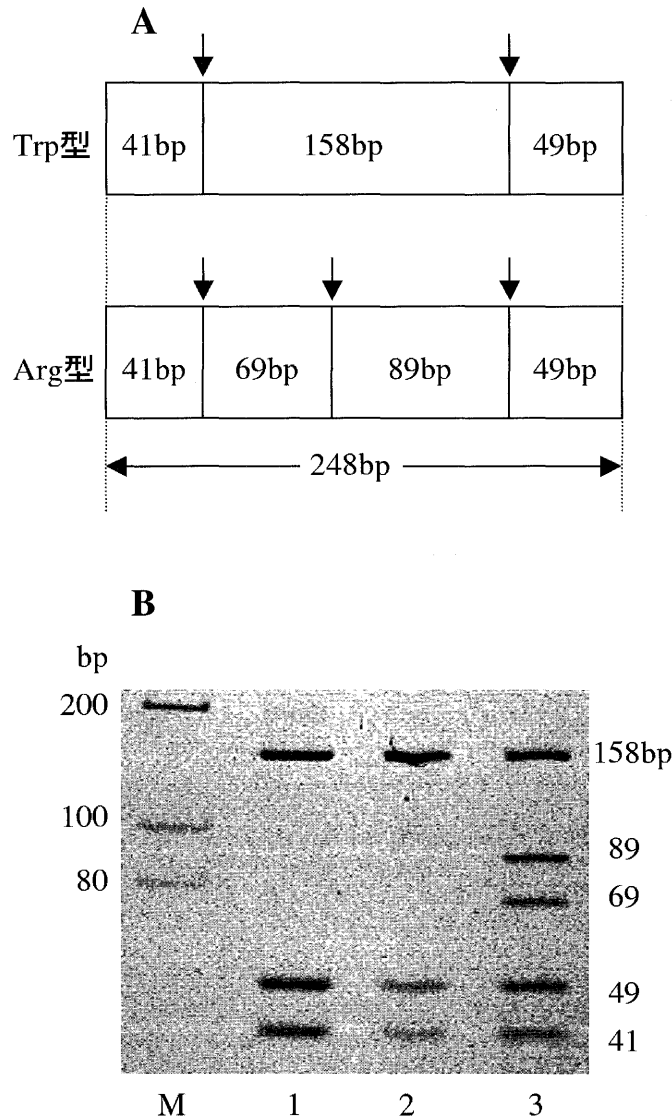


図3  $\beta$ 3-アドレナリンレセプターのTrp型とArg型の遺伝子型。パネルAの矢印は制限酵素 *Msp* I による切断部位を示す。248 bp のPCR産物は *Msp* I 消化によりTrp型では158 bp, 49 bp及び41 bpのDNA断片に、Arg型では89 bp, 69 bp, 49 bp及び41 bpのDNA断片となる。パネルBはTrp型とArg型の10%ポリアクリルアミドゲル泳動像で、レーン1, 2はTrp/Trp型、レーン3はTrp/Arg型、MはDNAマーカーを示す。

からなるF2から構成されており、457 bpのアレルは挿入された45 bpの塩基配列の上流側にF2の配列を持ち、F2→F1→F2、502 bpのアレルはF2→F1→F2→F1→F2の構造をとることが明らかになった。

UCP2第8エクソンの3' UTRの遺伝子型は457/457型のホモ接合体と457/502型のヘテロ接合体の2つのタイプが存在し、457/457型が14例、457/502型が4例で、457 bpアレル、502 bpアレルの遺伝子頻度はそれぞれ0.89, 0.11

で、502 bpアレルは青森県在住の成人男性に広く存在すると考えられた。しかし、412 bpアレル (deletion型) は観察されなかった。

#### (2) *ADRB3* 遺伝子型の頻度

*ADRB3*のPCR産物は *Msp* I消化によりTrp型では158 bp, 49 bpと41 bpのDNA断片に、Arg型では89 bp, 69 bp, 49 bpと41 bpの4つの断片となった(図3)。*ADRB3*におけるTrp64Argの遺伝子多型はTrp/Trp型のホモ接合体が16名で、Trp/Arg型のヘテロ接合体が2

名であった。Trp型とArg型の遺伝子頻度はそれぞれ0.94, 0.06で、今までに報告されている日本人データに比べ、Arg型の遺伝子頻度が低い値であった<sup>6~8)</sup>。Trp/Arg型が2例しか検出されなかったため、*ADRB3*の遺伝子多型と体重、肥満との統計学的評価は行わなかった。

### (3) *UCP2* 遺伝子型と体格、肥満の関係

457/502型のヘテロ接合体と457/457型のホモ接合体の成人男性の身長、体重、BMI、上腕三頭筋と側腹部での皮下脂肪の厚さ、RMR、脂肪率及び脂肪量の値を表1にまとめた。

457/502型のヘテロ接合体と457/457型のホモ接合体の間で、これらの値に有意差があるか、Mann-WhitneyのU検定により評価した。身長、BMI及びRMRには有意差を認めなかったが、体重、上腕三頭筋と側腹部での皮下脂肪の厚さ、脂肪率及び脂肪量はヘテロ接合体群で有意に高値を示した。

## 考 察

青森県在住の成人男性18名について、*UCP2*第8エクソンの3' UTRに存在する45 bp insertion型の遺伝子多型あるいは*ADRB3*のTrp型とArg型の遺伝子多型と体重、肥満との関連を検討した。*UCP2*の45 bp insertion/deletion多型はコーカシア人などにおいて多数の報告<sup>1, 9~13)</sup>が見られ、

BMI、皮下脂肪の厚さ及びRMRに有意な相関が報告されている。本邦においては、*UCP2*の第4エクソンのAla55Val、第7エクソンのAla232Thrの遺伝子多型が報告<sup>14, 15)</sup>されているが、この45 bp insertion/deletion多型については報告がない。今回の研究では、Walderら<sup>1)</sup>が指摘した457 bpのinsertion型にさらに同一塩基配列の45 bpが挿入された502 bpからなる新規の遺伝子型が、18名のうち4名に457/502型のヘテロ接合体として検出された。また、412 bpからなるdeletion型は観察されず、この部位における日本人の遺伝子多型は、コーカシア人とは異なると考えられ、さらに、45 bpの挿入箇所は、Walderらは第8エクソンの3'末端から158番目としている<sup>1)</sup>が、ダイレクトシーケンシングの結果からは457 bp、502 bpアレルとも111番目であった。また、挿入された45 bpは32 bpからなるF1と、13 bpからなるF2から構成され、457 bpと502 bpアレルとも挿入部の上流にF2配列をもつことも判明した。

*UCP2*の457/502型のヘテロ接合体4例と457/457型のホモ接合体14例の2群間において、体格と肥満に関するパラメータを比較した。457/502型のヘテロ接合体では体重、上腕三頭筋と側腹部の皮下脂肪の厚さ、脂肪率及び脂肪量が有意に高値を示した。この結果は*UCP2*の新規の

表1 *UCP2*の第8エクソンの3' UTRにおける遺伝子多型と体重、皮下脂肪の厚さの関係

	ホモ接合体 457/457 (n=14)	ヘテロ接合体 457/502 (n=4)	Total (n=18)
年齢(歳)	45.3±9.1	43.0±7.0	44.8±8.5
身長(m)	1.69±0.05	1.68±0.02	1.69±0.05
体重(kg)	69.7±9.3	82.9±12.7*	72.6±11.1
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	24.4±3.0	29.2±4.1	25.5±3.7
皮下脂肪の厚さ			
側腹部(mm)	9.4±1.7	11.7±1.4*	9.9±1.9
三頭筋(mm)	6.3±1.5	8.0±1.7*	6.7±3.7
RMR(kcal/day)	1,550±150	1,730±210	1,590±180
脂肪率	0.216±0.037	0.275±0.024*	0.229±0.042
脂肪量(kg)	15.2±4.2	23.0±5.3*	16.9±5.4

\*はMann-WhitneyのUテストで危険率5%で有意差を認めた項目を示す。

遺伝子型が、日本人成人男子の体重、皮下脂肪量と相関する可能性を示唆している。ポリAの直前に位置する3' UTRの多型について、*SEC14L*遺伝子ではmRNAの安定性または翻訳効率に影響を与えることが示唆されている<sup>16)</sup>。*UCP2*の場合も502 bpアレルでは*UCP2* mRNAの安定性が低下し、*UCP2*の低下をもたらす可能性が考えられるが、この点については検討が必要である。青森県の児童、生徒の体格が優れているが、これに*UCP2*の遺伝子型が関与しているか、今後検討する必要がある。Walderら<sup>1)</sup>、Bouchardら<sup>10)</sup>の報告によれば*UCP2*と*UCP3*は連鎖不平衡状態にあるとしている。今回、*UCP2*の新規遺伝子型が発見されたことから、日本人においてこの領域の詳細なハプロタイプ解析が必要と考えられる。

*ADRB3*については、日本人ではArg型の遺伝子頻度が0.23~0.16<sup>6~8)</sup>とされているが、我々の検討では遺伝子頻度が0.06と少ない値を示した。しかし、この数値が青森県人の遺伝子型頻度を正確に示しているかどうかは試料数を増やして検討する必要がある。

## 謝 辞

DNA試料である口腔内細胞の提供及び身長、体重等の計測に心よく同意いただいた被験者の皆様に深謝します。

## 参考文献

- 1) Walder K, Norman RA, Hanson RL, Schrauwen P, Neverova M, Jenkinson CP, Easlick J, et al. Association between uncoupling protein polymorphisms (UCP2-UCP3) and energy metabolism/obesity in Pima Indians. *Hum Mol Genet* 1998;7:1431-5.
- 2) Clement K, Vaisse C, Manning BJ, Basdevant A, Guy-Grand B, Silver KD, Ruiz J, et al. Genetic variation in the  $\beta$ 3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with obesity. *N Engl J Med* 1995;333:352-4.
- 3) Widen E, Lehto M, Kanninen T, Walston J, Shuldiner AL, Groop LC. Association of a polymorphism in the  $\beta$ 3-adrenergic receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. *N Engl J Med* 1995;333:348-51.
- 4) Walton J, Silver K, Bogardus C, Knowler WC, Celi FS, Austin S, Manning B, et al. Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the  $\beta$ 3-adrenergic receptor gene. *N Engl J Med* 1995;333:343-7.
- 5) Gagnon J, Mauriège P, Roy S, Sjöström D, Chagnon YC, Dionne FT, Oppert J-M, et al. The Trp64Arg mutation of the  $\beta$ 3 adrenergic receptor gene has no effect on obesity phenotypes in the Quebec family study and Swedish obese subjects cohorts. *J Clin Invest* 1996;98:2086-93.
- 6) Kadowaki H, Yasuda K, Iwamoto K, Otabe S, Shimokawa K, Silver K, Walton J, et al. A mutation in the  $\beta$ 3-adrenergic receptor gene is associated with obesity and hyperinsulinemia in Japanese subjects. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;215:555-60.
- 7) 和賀央子, 岩橋和彦, 吉原英児, 寺島茂, 池田和隆, 飴野清, 飴野節子ら. 日本人における高血圧症とアドレナリン $\beta$ 3受容体遺伝子多型との関連について. *DNA多型* 2004;12:280-2.
- 8) Ueda K, Tanizawa Y, Oota Y, Inoue H, Kizuki N, Inoue H. Prevalence of the Trp64Arg missense mutation of the beta3-adrenergic receptor gene in Japanese subjects. *Metabolism* 1997;46:199-202.
- 9) Yanovski JA, Diament AL, Sovik KN, Nguyen TT, Li H, Sebring NG, Warden CH. Associations between uncoupling protein 2, body composition, and resting energy expenditure in lean and obese African American, white, and Asian children. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1405-20.
- 10) Bouchard C, Perusse L, Chagnon YC, Warden C, Ricquier D. Linkage between markers in the vicinity of the uncoupling protein 2 gene and resting metabolic rate in humans. *Hum Mol Genet* 1997;6:1887-9.
- 11) Evans D, Minouchehr S, Hagemann G, Mann WA, Wendt D, Wolf A, Beisiegel U. Frequency of and interaction between polymorphisms in the beta3-adrenergic receptor and in

- uncoupling proteins 1 and 2 and obesity in Germans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24:1239-45.
- 12) Duarte NL, Colagiuri S, Palu T, Wang XL, Wilcken DE. A 45-bp insertion/deletion polymorphism of uncoupling protein 2 in relation to obesity in Tongans. *Obes Res* 2003;11:512-7.
- 13) Cassell PG, Neverova M, Janmohamed S, Uwakwe N, Qureshi A, McCarthy MI, Saker PJ, et al. An uncoupling protein 2 gene variant is associated with a raised body mass index but not type II diabetes. *Diabetologia* 1999;42:688-92.
- 14) Kubota T, Mori H, Tamori Y, Okazaki H, Fukuda T, Miki M, Ito C, et al. Molecular screening of uncoupling protein 2 gene in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus or obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2800-4.
- 15) Shiinoki T, Suehiro T, Ikeda Y, Inoue M, Nakamura Y, Kumon Y, Nakauchi Y, et al. Screening for variants of the uncoupling protein 2 gene in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1999;48:581-4.
- 16) Chinen K, Takahashi E, Nakamura Y. Isolation and mapping of a human gene (SEC14L), partially homologous to yeast SEC14, that contains a variable number of tandem repeats (VNTR) site in its 3' untranslated region. *Cytogenet Cell Genet* 1996;73:218-23.