

2017 175


(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論文題目

A Missense Mutation of Pax4 Gene (R121W) Associated with Type 2 Diabetes in Japanese

[日本人2型糖尿病に關与する Pax4 遺伝子変異(R121W)の同定]

氏名 島尻佳典 

【緒言】 Pax4 は膵β細胞分化の転写因子である。Pax4 遺伝子欠損マウスには膵β細胞がない。膵β細胞はインスリンを産生し、分泌する。膵β細胞機能が低下すると糖尿病になる。Pax4 遺伝子変異はインスリン分泌不全を誘導し、糖尿病をひきおこす。日本人2型糖尿病患者で Pax4 遺伝子変異の有無をスクリーニングした。糖尿病発症での Pax4 遺伝子変異を検討した。

【対象・方法】 2 型糖尿病患者 200 名、非糖尿病対照 161 名を検討した。非糖尿病対照は、空腹時血糖値が正常、グリコヘモグロビンが 5.8%未満で、糖尿病の家族歴や耐糖能障害のない、60 歳以上の 161 名である。

対象者の末梢血より DNA を抽出した。各エクソンを挟むようにプライマーを設定し、Pax4 蛋白翻訳領域の変異を検索した。変異の検出方法には、polymerase chain reaction - single strand conformational polymorphism (PCR-SSCP)法と直接シーケンス法を

用いた。機能解析は、ルシフェラーゼ・アッセイ法とゲルシフト・アッセイ法で行った。

【結果】7例の糖尿病患者(7例/200例, 3.5%)にミスセンス変異(R121W)を同定した。1例は変異型ホモ接合体保有患者であった。変異はDNA結合ドメインに存在した。161例の非糖尿病対照者には変異はなかった。本変異は有意に糖尿病患者に多い( $p < 0.01$ )。

変異型ホモ接合体保有者は1例あった。この患者では、発症1年前に奇形を伴う巨大児の分娩歴があった。若年発症で、発症前にケトーシスの既往はなく、発症時の膵ラ氏島自己抗体は陰性であったが、発症1年以内にインスリン依存状態になった。家族検索では、両親、妹ともヘテロ接合体の変異を有していた。75g経口ブドウ糖負荷試験では、両親、妹とも糖負荷に対する初期インスリン分泌反応が低下していた。

ヘテロ接合体変異のある他の家系の家族検索でも、

変異保有者は初期インスリン分泌反応が低下していた。

本遺伝子変異が転写活性にどのように影響しているか、ルシフェラーゼ・アッセイ法で確認した。結果、変異型 Pax4 は野生型 Pax4 でみられる転写抑制能が90%以上減弱していた。DNA 結合能を解析すると、野生型 Pax4 はコンセンサス配列に強く結合したが、変異型 Pax4 は結合しなかった。

【結論】日本人2型糖尿病患者で Pax4 のミスセンス変異(R121W)を同定した。臨床像と機能解析から、変異型ホモ接合体患者の糖尿病発症に本遺伝子変異が関与していることを示した。ヘテロ接合体変異保有者でもインスリン分泌能が障害されている。本変異は日本人2型糖尿病患者の3.5%にみられる遺伝子変異の一つである。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 論文博 第 号	氏名	島尻佳典
論文審査委員	平成 13 年 10 月 23 日		
	主査教授	田中龍夫	(田中)印
	副査教授	龍下修一	(龍下)印
	副査教授	有泉誠	(有泉)印
(論文題目)			
A Missense Mutation of Pax4 Gene (R121W) Associated with Type 2 Diabetes in Japanese			
(論文審査結果の要旨)			
研究に至る背景と目的, 研究内容, 研究成果の意義, 学術的水準について検討し, 以下のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景と目的			
2型糖尿病は多数の遺伝子の異常が関係すると考えられているが, 関係する遺伝子の研究はまだ充分ではない。Pax4 は膵β細胞分化に必須な転写因子であり, 2型糖尿病に関係する可能性が高い。そこで, 日本人2型糖尿病患者でPax4 遺伝子変異の有無をスクリーニングし, 糖尿病発症と Pax4 遺伝子変異の関連を検討した。			
2. 研究内容			
和歌山大学病院に来院した2型糖尿病患者より200名を選んで検索を行なった。対照として, 60歳以上で空腹時血糖値が正常, グリコヘモグロビンが5.8%未満で糖尿病の家族歴や耐糖能異常のない者161名を選んだ。更に沖縄県在住患者193名についても検討を加えた。			
末梢血よりDNAを抽出し, 各エクソンを挟むようにプライマーを設定して, Pax4 遺伝子全翻訳領域の変異を検索した。polymerase chain reaction - single strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) 法によってスクリーニングを行ない, 変異のみとめられた場合には塩基配列を決定した。有意に糖尿病患者に多い ( $p < 0.01$ ) 変異として, DNA 結合領域にミスセンス変異 (R121W) を見出した。この変異は和歌山地区7例 (3.5%), 沖縄地区12例 (6.2%) の患者に検出されたが, 対照者には認められなかった。			

- 備考 1 用紙の規格は, A4とし縦にして左横書とすること。  
2 要旨は800字~1200字以内にまとめること。  
3 \*印は記入しないこと。

変異型ホモ接合体保有者が1例あった。この患者は若年発症で、発症前にケトーシスの既往はなく、発症時の膵ラ氏島自己抗体は陰性であったが、発症1年以内にインスリン依存状態になった。発症1年前に奇形をとこなう巨大児の分娩歴がある。両親、妹ともヘテロ接合体の変異を有し、ともに血糖値に異常は認められなかったが、75g経口ブドウ糖負荷試験では初期インスリン分泌反応が低下していた。ヘテロ接合体変異のある他の家系の家族検索でも、変異保有者は初期インスリン分泌反応が低下していた。

本遺伝子変異が転写調節活性にどのように影響しているか、ルシフェラーゼアッセイにより検討した。変異型 Pax4 は野生型 Pax4 でみられる Pax6 の転写促進に対する阻害効果が90%以上減弱していた。ゲルシフトアッセイによれば、野生型 Pax4 がグルカゴンプロモーターに対して明らかな結合を示すのに対して、変異型 Pax4 は結合能を失っていた。

### 3. 研究成果の意義と学術水準

この研究は日本人2型糖尿病患者の3.5% (和歌山) ないし6.2% (沖縄) に Pax4 の変異 (R121W) が有ることを見出したものである。変異型ホモ接合体患者の糖尿病発症に本遺伝子変異が関与している可能性を臨床像と機能解析から論じ、またヘテロ接合体変異保有者でもインスリン分泌能が障害されていることを示している。

本研究は、日本人2型糖尿病の発症を考える上で重要であり、国際的に評価できるものと考えられる。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。