The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	PAX6 Mutation as a Genetic Factor Common to Aniridia and Glucose Intolerance
Author(s)	安田, 哲行
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43788
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【17】

氏　　名	安田哲行（やすだ てつゆき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　16814　号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	*PAX6* Mutation as a Genetic Factor Common to Aniridia and Glucose Intolerance （無虹彩症と耐糖能異常の共通因子としてのPAX6遺伝子変異）
論文審査委員	（主査） 教授　堀　正二 （副査） 教授　松澤　佑次　　教授　平野　俊夫

論文内容の要旨

【背景・目的】

膵β細胞は内胚葉由来の前腸から生じる膵芽上皮に由来するが、膵芽の形成からβ細胞の最終分化に至る発生・分化の過程には数多くの転写因子が関わる。糖尿病発症成因の解明に向けて、あるいは将来のβ細胞再生～糖尿病細胞治療の実現に向けてその分子機構の解明が待たれる中で、我々はPaxファミリー転写因子に注目し研究を行ってきた。Paxファミリー（Pax1-9）とはpaired-boxとpaired型ホメオドメインと呼ばれる2つのDNA結合領域を有する転写因子で中枢神経系や骨格筋・甲状腺など全身の多くの組織の発生・分化に関わる。膵ではPax6およびPax4が発現し、Pax6の欠失においてはβ細胞、α細胞を含む膵の各内分泌細胞の細胞数が減少し、また、各膵島細胞1個あたりのホルモン産生量も低下する。一方、Pax4の欠失ではβ細胞およびδ細胞の欠失とα細胞の増加が認められるが、我々は最近、Pax4がグルカゴン遺伝子などに存在するPax6の結合領域に結合しPax6の機能を抑制する転写抑制因子として機能することを見いだした（Mol Cell Biol 19: 8281-91, 1999）。すなわち、膵島細胞分化の過程では、Pax6が膵内分泌細胞全体の分化に関わる一方で、Pax4は一時的にPax6の機能を抑制し、defaultではα細胞となるようにプログラムされた前駆細胞をβ細胞に分化させるという分化調節機構が働く。

近年、膵β細胞量が2型糖尿病発症を規定する因子として注目される中で、本研究ではPax6機能と耐糖能の相関を解析した。Pax6は膵島細胞分化に関わる一方で、中枢神経組織にも発現し眼球形成のマスターコントロール遺伝子として機能することが知られているが（ホモ欠損では無眼球症）、興味深いことに、そのヘテロ遺伝子異常によっても遺伝性眼球形成異常（小眼球症（マウス）、無虹彩症（ヒト）など）を来す。そこで本研究ではPAX6遺伝子変異の存在が予想される眼疾患患者を対象に同遺伝子異常が糖尿病あるいは耐糖能異常の原因となる可能性を検討した。

【方法】

1．対象：大阪厚生年金病院あるいは大阪大学医学部付属病院眼科通院中の無虹彩症患者（5名；A～E）及びPeters' anomaly患者（1名；F）。

2．遺伝子変異スクリーニング：PAX6遺伝子の蛋白コード領域を含む全てのエクソンを直接シークエンス法により解析した。変異が見つからなかった症例に対しては、Southern blot解析、およびmicrosatellite markerのheterozygosityを評価することにより、long deletionの有無を検討した。

3．変異PAX6のDNA結合能評価：In vitro translationで作製したPAX6蛋白を用いてGel-mobility shift解析を行った。
4．変異PAX6の転写活性化能評価：5x（PAX6結合コンセンサス配列）を標的プロモーターとして用いreporter gene解析を行った。
5．耐糖能評価：75g OGTT（glucose、insulin）を行った。但し、インスリン治療中の糖尿病患者1例に対しては施行せず。

【結果】
1．4症例（A～D）のPAX6遺伝子において、2種類の未報告変異（A：590ins7、B：790del4）および1種類の既知の変異（C、D：969C>T）をヘテロ接合体で同定した。
2．同定された遺伝子変異はPAX6のpaired domain（Aの場合）あるいはlinker region（B、C、Dの場合）に存在する変異であり、結果としていずれの変異もそれらの領域で蛋白のtruncationをもたらし（C末側に存在する）転写活性化領域を欠失した。
3．変異PAX6蛋白のうち、B、C、およびDはDNA結合能を保持したのに対し、Aでは保持されなかった。
4．DNA結合能の有無に関わらず、いずれの変異蛋白（A～D）においても転写活性化能が欠失した。
5．PAX6遺伝子変異との関連が通常認められないPeters' anomaly患者（F）が正常耐糖能を呈した一方で、遺伝子変異が認められたすべての患者（A～D）にインスリン分泌不全を主態とした耐糖能異常（A：IFG、B.C.D：IGT）が認められた。無虹彩症患者（E）は、23歳時に糖尿病を発症しインスリン治療中であった。
6．糖尿病を呈した患者Eの家系においては糖尿病が無虹彩症とよく連関して認められた。患者Eでは検索し得たPAX6遺伝子の領域に変異を同定し得なかったが、一方で第9イントロンに同定されたSNPが同家系における糖尿病あるいは無虹彩症と連関したことから、同家系においては（非翻訳領域やプロモーター領域など）今回検索し得なかった領域に変異が潜在する可能性が示唆された。

【総括】
膵島の発生・分化に重要な役割を有する転写因子PAX6のヘテロ遺伝子異常が、ヒトにおいて、眼の発生異常とインスリン分泌不全を主態とした耐糖能異常に共通する遺伝因子となり得ることが示された。一方、最近、PAX4の遺伝子異常がやはりヒトにおいて糖尿病の原因となることが我々の研究室などにより示され（Diabetes 50: 2864-2869, 2001)、PAX6/PAX4システムの機能障害に伴う膵β細胞の発生・分化異常がヒトにおける糖尿病発症に重要な役割を演じることが明らかとなってきた。こうした知見は糖尿病の病態理解を深めるのみならず、新しい糖尿病治療のターゲットを提供する可能性があり臨床的に極めて興味深い。

論文審査の結果の要旨

糖尿病発症に関わる遺伝因子が未だ明らかでないなか、安田哲行君は、元来、先天性眼疾患である無虹彩症の原因遺伝子として知られていたPaxファミリー転写因子であるPax6に注目し、この転写因子が膵島細胞分化およびインスリン遺伝子の転写に関わることから、糖尿病発症にも関与する可能性を検討した。その結果、彼はPax6ヘテロ遺伝子異常が糖尿病に繋がる耐糖能異常の原因となり得ることを明らかとした。本研究に先立ち、安田君は共同研究者らとともに、転写因子Pax4が膵発生において転写抑制因子として機能し、α細胞の発生に必要なPax6の機能を一部抑制することでβ細胞分化を誘導することを明らかとしている。こうした基礎的研究成果を踏まえた今回の臨床研究の成果は、ヒトにおけるβ細胞の発生・分化の分子機構の理解や糖尿病細胞治療にも繋がりうるものであり、学位に値するものと認める。