

| | |
|--------------|--|
| Title | Three new mutations in the hepatocyte nuclear factor-1 α gene in Japanese subjects with diabetes mellitus : clinical features and functional characterization |
| Author(s) | 吉内, 一正 |
| Citation | 大阪大学, 2004, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/44666 |
| 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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

| | |
|------------|---|
| 氏名 | よし うち いっ せい 吉 内 一 正 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学位記番号 | 第 1 8 2 8 3 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 16 年 1 月 28 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 2 項該当 |
| 学位論文名 | Three new mutations in the hepatocyte nuclear factor-1 α gene in Japanese subjects with diabetes mellitus: Clinical features and functional characterization (日本人糖尿病患者における新しい3つの HNF-1 α 遺伝子異常の解析: 臨床的特徴と機能解析) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 金倉 譲 (副査) 教授 宮崎 純一 教授 荻原 俊男 |

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

MODY (maturity-onset diabetes of the young) は、常染色体優性遺伝形式を示し、通常 25 歳以下の若年で発症する糖尿病の一亜型である。近年の研究の結果、膵 β 細胞や肝細胞に発現する転写因子である hepatocyte nuclear factor-1 α (HNF-1 α) の遺伝子異常により MODY3 型が発症することが明らかにされている。本研究においては、日本人 1 型および 2 型糖尿病と臨床的に診断されている患者の中において HNF-1 α の遺伝子異常が存在しているか否かについて検討を行うとともに、HNF-1 α 遺伝子変異を有する糖尿病患者の臨床的特徴および、HNF-1 α 変異体の機能についても解析を行った。

【方 法】

- 45 名の日本人 1 型糖尿病患者および 37 名の若年発症 (35 歳未満発症) の 2 型糖尿病患者について HNF-1 α 遺伝子の全エクソンおよびプロモーター領域の塩基配列を PCR 直接シーケンス法にて決定し、変異の有無について検討した。
- 遺伝子変異を有する患者について、BMI やインスリン分泌能など臨床像の検討を行った。
- Mutagenesis 法により、同定した変異体の作製を行った。MIN6 細胞、Hep G2 細胞、Hela 細胞などの各種培養細胞に正常および変異体 HNF-1 α cDNA を発現させ、両者の蛋白発現レベル、DNA 結合能および転写活性能について検討した。プロモーター領域 (A サイト) の変異 (+102G to C) については、DNA 蛋白結合能およびプロモーター活性能を正常型と比較検討した。

【結 果】

- 45 名の 1 型糖尿病患者中、エクソン 6 の転写活性領域に存在するミスセンス変異 (G415R) 1 例および、プロモーター領域の A サイトの変異 (+102G to C) 1 例を同定した。また、37 名の若年発症 2 型糖尿病患者中、エクソン 4 の DNA 結合領域に存在するミスセンス変異 (R272C) を 1 例認めた。これらの 3 種類の変異は、日本人健常コ

ントロール 100 人においては認められなかった。

2. これら変異を有する患者は、BMI 17.3-22.2 kg/m²と比較的やせ型で肥満を認めず、尿中 CPR 0.99-4.87 nmol/day とインスリン分泌能の低下を認めた。また、R272C 変異を有する患者においては、アルギニン刺激に対するインスリン分泌およびグルカゴン分泌の低下を認めた。

3. G415R-HNF-1 α 変異体では、DNA 結合能が 62%低下しており、Hela 細胞における転写活性は正常型の 57%であった。R272C-HNF-1 α 変異体は、DNA 結合能が消失しており、転写活性能も認めなかった。また、R272C 変異体を MIN6 細胞に正常型 HNF-1 α と共発現させると量依存的に正常 HNF-1 α の活性を抑制し、同変異は dominant negative 効果を有していた。MIN6 細胞の核蛋白の変異型 A サイト (+102C) オリゴ DNA に対する結合能は、正常型 A サイト (+102G) に比して、89%の低下を認めた。また、MIN6 および HepG2 細胞を用いたリポーターアッセイの結果、変異型 A サイトを持つプロモーターは、正常型に比較して 1.4-1.8 倍のプロモーター活性の亢進を示した。

【総括】

1 型、2 型糖尿病と臨床的に診断されている日本人糖尿病患者における HNF-1 α の遺伝子異常を検討したところ、45 名の 1 型糖尿病患者において 2 例 (4.4%)、37 名の若年発症 2 型糖尿病患者において 1 例 (2.7%) 認め、HNF-1 α 遺伝子異常による糖尿病が、MODY のみならず 1 型および 2 型糖尿病と診断されている症例の中において存在することが明らかになった。これらのいわゆる HNF-1 α 異常型糖尿病患者は、いずれもやせ型でインスリン分泌不全が認められたが、一部の症例においてグルカゴン分泌能も低下していたことから、HNF-1 α の変異により β 細胞だけでなく α 細胞の機能障害も存在していることが示唆された。

HNF-1 α 変異体の機能解析の結果、2 種類のミスセンス変異 (G415R と R272C) は、loss of function 変異であることが判明した。一方、プロモーター領域 A サイトの変異 (+102G to C) では、逆にそのプロモーター活性は増強しており、この変異は gain of function 変異であると考えられた。従って、HNF-1 α の機能低下のみならず機能亢進によっても糖尿病が発症することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文では、臨床的に 1 型糖尿病と診断されている症例やインスリン分泌不全型の 2 型糖尿病症例において HNF1 α 遺伝子異常の存在を検索し、HNF1 α 遺伝子異常を有する糖尿病症例の臨床的特徴および、同遺伝子変異の機能解析を検討したものである。その結果、新しい 3 つの HNF1 α 遺伝子異常を同定し、HNF1 α 遺伝子異常によると思われる糖尿病は、MODY のみならず 1 型およびインスリン分泌不全型の 2 型糖尿病と診断されている症例の中においても存在することを明らかにした。これらの HNF1 α 遺伝子異常を有する患者 (HNF1 α 異常型糖尿病患者) はやせ型で若年発症し、インスリン分泌不全を認めた。また、機能解析の結果、loss of function 変異、dominant negative 変異、gain of function 変異であることが判明した。これらの結果より、HNF1 α の機能低下のみならず機能亢進によっても糖尿病が発症する可能性も初めて示された。以上の成果は糖尿病発症機構における転写因子 HNF1 α の重要性を示したものであり、本研究は意義深く学位に値するものである。