

氏 名	ユ 力	リキ 力
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)	
学位記番号	医 博 第 2570 号	
学位授与の日付	平成 15 年 3 月 24 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	医学研究科内科系専攻	
学位論文題目	Genetic variation in the hepatocyte nuclear factor (HNF)-3 α gene does not contribute to maturity-onset diabetes of the young in Japanese (肝核内因子 HNF-3 α の遺伝子変異は日本人 MODY の発症に寄与しない)	
論文調査委員	(主 査) 教授 中尾 一 和 教授 白川 太郎 教授 清野 裕	

論 文 内 容 の 要 旨

若年発症成人型糖尿病 (maturity-onset diabetes of the young, MODY) は若年発症と常染色体優性遺伝で特徴づけられる糖尿病のサブタイプであり, 非肥満とインスリン分泌不全を呈する。現在までに 5 種類の原因遺伝子 (MODY 1-5) が同定されており, これらは互いに関連した転写因子である肝核内因子 (hepatocyte nuclear factor, HNF) をコードするか, または同転写因子の標的遺伝子である。MODY 遺伝子群の上流転写因子である HNF-3 はフォークヘッドファミリーの転写因子であり, HNF-3 α , -3 β , -3 γ の三つのアイソフォームが知られる。糖負荷試験によると, HNF-3 α ヘテロ欠損マウスは正常マウスに比べて高血糖とインスリン分泌不全を呈する。従って, HNF-3 α 遺伝子は新しい MODY 遺伝子の有力候補であるので, 本研究では HNF-3 α 遺伝子を同定し, MODY における同遺伝子異常の有無を検討した。まず, ヒト HNF-3 α 遺伝子の構造と染色体上の位置を決定した。cDNA の特異的領域に PCR プライマーを設定し, P1由来人工染色体 (PAC) DNA プールをスクリーニングすることによって, HNF-3 α 遺伝子を含む PAC クローン (63C19) を同定した。次いで, 直接シーケンス法により遺伝子構造を解析した結果, HNF-3 α 遺伝子は全長約 5kb であり 2 つのエクソンで構成された (GenBank: AF303742, AF303743)。さらに, ヒトハイブリッド全ゲノムパネル Genebridge 4 を使い, 放射線ハイブリッドマッピング法により HNF-3 α 遺伝子を第 14 番染色体長腕上 (マーカー D14S75 の近傍 5.7cR) にマップした。日本人 MODY45 症例について HNF-3 α 遺伝子の 2 つのエクソンとプロモーター領域の遺伝子変異をスクリーニングした。15 才以下発症の非肥満例には MODY が高頻度であるという成績に基づいて, 尿糖陽性で発見された非肥満の学童 2 型糖尿病 50 症例も同様に解析した。その結果, 1 種類の変異 (Ala-83-Thr, エクソン 2) を含む 4 種類の一塩基多型 (SNP) を見出した。しかし出現頻度はいずれも対照 96 例と有意差を認めなかったため, HNF-3 α 遺伝子は日本人の主たる MODY 遺伝子ではないと結論した。しかし興味深いことに, 決定したエクソン配列はデータベースに登録された cDNA 配列と 3 種類のアミノ酸置換を含めて 6 ケ所が異なった。dbEST 調査の結果, 配列の差異は種差に基づくものであり, 3 種類のアミノ酸置換 (Gly-72-Ala, Met-125-MetMet, Gln-186-Arg) は白人に特有な変化であることが判明した。特に, 186 番のアミノ酸は DNA 結合に重要な部位に位置しており, 日本人の Gln はラット, マウスなど種を越えて保存されているが, 白人では Arg であった。従って, これらの変異による蛋白機能の変化は, 日本人と欧米人における糖尿病病態の差異の背景となる可能性が考えられる。以上の成績から, HNF-3 α 遺伝子構造を決定し, 遺伝子スクリーニングの結果, 7 種類の cSNP と 3 種類の iSNP を見出した。しかし, HNF-3 α 遺伝子は日本人の主たる MODY 遺伝子ではなかった。これらの SNP ツールは, 日本人の他の病型との関連解析, 他民族における同遺伝子多型の意義の解析, さらに第 14 番染色体長腕上にマップされた種々の病態の遺伝学的解析において重要な役割を果たすであろう。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

若年発症成人型糖尿病 (MODY) は糖尿病のサブタイプであり, 非肥満のインスリン分泌不全を呈する。そこで申請者

は日本人の2型糖尿病の感受性を解明するために新しいMODY遺伝子を同定し、その情報を2型糖尿病研究に応用する戦略をとった。既知のMODY遺伝子は互いに関連する転写因子をコードするので、申請者は調節カスケード上流のHNF-3 α 遺伝子に着目した。ヘテロ欠損マウスは高血糖とインスリン分泌不全を呈するので、同遺伝子は重要な候補である。先ず、遺伝子構造を明らかにし、その位置を第14番染色体長腕上にマップした。次いで、MODYおよび若年糖尿病について変異の有無を検討した結果、1種類のミスセンス変異を含む4種類のSNPを見い出した。しかし、出現頻度はいずれも対照との間に有意差を認めなかったため、HNF-3 α 遺伝子は日本人の主たるMODY遺伝子ではないと考えられた。一方、日本人と白人の間に3種類のアミノ酸変異が存在することが判明したので、これらによる蛋白機能の変化はインスリン分泌能の民族差の一因となる可能性が考えられる。

本研究によるHNF-3 α 遺伝子構造、染色体マッピングおよびSNPマーカーに関する新知見は、民族間にみられる糖尿病の病態の差異解明に寄与するところが多い。

従って、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15年1月20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。