

た。一方, JNK 阻害剤 SP600125 処理による影響は認められなかった。Ser374 および Ser362/Ser374 アラニン変異型 c-Fos 導入細胞では野生型導入細胞に比し, 有意な c-Fos 蛋白レベルの低下が認められた。c-Jun をコトランスプレクションした Ser362/Ser374 アラニン変異型 c-Fos 導入細胞では野生型導入細胞に比し, カドミウム曝露による AP-1/c-Fos DNA 結合活性上昇は 48% 低下した。

〔考察〕

カドミウムを曝露した HK-2 細胞において, Fos ファミリー遺伝子の発現誘導が認められた。また, c-Fos Ser362, Ser374 部位のリン酸化を伴う c-Fos 蛋白の蓄積が生じた。c-Fos 発現誘導とそのリン酸化は, ERK と p38 経路が主要なシグナル伝達系であった。c-Fos 蛋白蓄積には, Ser374 部位リン酸化による安定化が重要であると考えられた。また, Ser362, Ser374 両部位リン酸化は, カドミウム曝露により生じる AP-1/c-Fos DNA 結合活性上昇に関与すると考えられた。

〔結論〕

腎毒性重金属カドミウムは, ヒト HK-2 腎近位尿細管細胞において, AP-1 活性化を伴う c-Fos およびリン酸化型 c-Fos 蛋白レベルの上昇を引き起こす。

論文審査の要旨

本研究では, 転写調節因子 AP-1 を構成する c-Fos 蛋白に着目し, カドミウム曝露による c-Fos 蛋白リン酸化とその毒性学的意義について検討した。その結果, 塩化カドミウムを曝露したヒト HK-2 腎近位尿細管細胞において, *c-fos* を含む Fos ファミリー遺伝子発現誘導, C 末端セリン 362・374 部位のリン酸化を伴う c-Fos 蛋白蓄積, MAP キナーゼ経路のうち ERK と p38 を介するセリン残基リン酸化, セリン 374 部位リン酸化による c-Fos 蛋白安定化, 両セリン 362・374 部位リン酸化による AP-1 活性上昇を見出した。以上の結果から, 腎毒性重金属カドミウムは, HK-2 細胞において, AP-1 活性化を伴う c-Fos およびリン酸化型 c-Fos 蛋白レベルの上昇を引き起こすと結論された。本研究結果は, 環境汚染物質カドミウムの細胞毒性発現の分子機構のみならず, 環境ストレス応答・適応に関わる細胞内シグナル伝達系の役割を知る上でも学術的意義の高い知見である。

氏名	滝澤美保
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	甲第 513 号
学位授与の日付	平成 23 年 3 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当(医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	Identification of genomic rearrangement in <i>GCK</i> and <i>HNF1B</i> in Japanese MODY (日本人 MODY 症例における <i>GCK</i> と <i>HNF1B</i> 遺伝子のゲノム構造異常の同定)
主論文公表誌	Diabetologia 投稿予定
論文審査委員	(主査) 教授 岩本 安彦 (副査) 教授 齋藤加代子, 立元 敬子

論文内容の要旨

〔目的〕

Maturity onset diabetes of the young (MODY) は膵β細胞機能にかかわる単一遺伝子異常による糖尿病である。遺伝子変異の検出には塩基配列決定法が用いられてきたが, この方法ではゲノム構造異常を検出することはできない。最近白人で, 塩基配列決定法で変異が認められない MODY において, 原因遺伝子のゲノム構造異常を有する症例が報告された。本邦では同様の解析が行われていないため, 日本人 MODY 症例を対象に原因遺伝子の

ゲノム構造異常について検討した。

〔対象および方法〕

対象は臨床的に MODY の可能性があるが、塩基配列決定法で原因遺伝子に変異が検出されなかった 252 人の発端者である。4 種類の MODY 遺伝子について multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) 法を用いてエクソン毎に遺伝子量を半定量した。遺伝子量の増減を認めた症例については、欠失・重複の確認とその範囲の同定のためオリジナルの custom comparative genome hybridization (CGH) microarray を作製し解析した。

〔結果〕

臨床症状が MODY5 に一致する 4 症例において MLPA 法により *HNF1B* (MODY5 原因遺伝子) 全体の欠失を認め、さらに欠失範囲が全例で同遺伝子を含む約 1.4Mb の同じ領域であることを CGH microarray によって確認した。うち 1 症例は *de novo* 変異と考えられた。また、*HNF1B* を含む同領域の増幅を示す 1 家系を検出した。さらに、*GCK* (MODY2 原因遺伝子)、*HNF1B* においてエクソン単位の増幅例を各 1 症例ずつ MLPA と CGH microarray で確認した。

〔考察〕

HNF1B を含む約 1.4Mb 領域の増幅や欠失範囲は 5 例に共通で、白人の報告とも一致していた。同領域の両端には反復配列を認めることから、この領域はゲノム構造上、欠失・重複を生じやすい hot spot と考えられた。今回の検討では *HNF1B* のゲノム構造異常の出現頻度は 10% と、白人の 30% より少なかった。また、ゲノム構造異常の *de novo* 変異による孤発例 MODY を同定し、常染色体優性遺伝でなくとも MODY と診断し得ることから疾患概念の拡大が示唆された。*HNF1B* 全長の増幅例や 1 エクソン単位の増幅を初めて同定したが、表現型との関連についてはさらに多数の症例の集積を要する。

〔結論〕

HNF1B を含む 17q12 のゲノム構造異常を 5 症例同定し、欠失例における臨床症状は MODY5 に合致していた。さらに、MODY においてカスタム CGH アレイを用いて我が国で初めて微細ゲノム構造異常を同定した。

論文審査の要旨

Maturity onset diabetes of the young (MODY) は、若年発症で濃厚な家族歴を示し、インスリン分泌低下型を特徴とする糖尿病であり、転写因子やグルコキナーゼの遺伝子異常に基づく疾患である。近年、塩基配列決定法では変異が認められないが、ゲノム構造異常を有する症例の報告が行われた。本研究では、臨床的に MODY と思われる症例において、塩基配列決定法では原因遺伝子の変異が認められなかった者を対象に、multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) 法を用いて、エクソン毎に遺伝子量の半定量を行い、さらに遺伝子量の増減を認めた症例には、欠失・重複の確認と解析を進めた。

その結果、MODY-5 の臨床像を示す 4 症例において MLPA 法により *HNF-1B* 全体の欠失を認め、1 症例において *HNF-1B* 領域の増幅を示す家系を明らかにした。

本研究成果は、MODY の遺伝子変異が同定されていなかった多くの症例を対象に MLPA 法を用いて新たに解析した結果ゲノム構造異常を示すことができた点で日本人 MODY 遺伝子研究の上で重要な発見であり、学位論文に値する。