転写因子の異常による糖尿病

Diabetes Mellitus Associated with Mutations in the Transcription Factors, HNF-1 α and NHE-4 α

糖尿病は膵B細胞のインスリン分泌不全によって発症する遺伝性疾患である。したがって、インスリン合成および分泌において重要な遺伝子に何らかの異常が存在して疾患が生じると考えられるが、その実態はいまだ明らかではない。特に、糖尿病の大部分を占めるインスリン非依存型糖尿病 (non-insulin-dependent diabetes mellitus—NIDDM) の遺伝素因の解明は困難である。すなわち、NIDDM の発症には複数の遺伝因子と肥満、ストレス、過食などの環境因子が複雑に関与するために単純な遺伝形式をとらないこと、疾患の発症が通常中年以降であるために健常者と糖尿病素因を有するものとの完全な分離が困難であること、などが遺伝学的解明を遅らせている。しかし、単純なメンデル遺伝形式を示すタイプの糖尿病がまれではあるが存在することが知られている。

Fajans は、NIDDM が若い年代 (通常 25 歳以下) で発症する家系を発見し、常染色体優性遺伝を示す糖尿病を新たなタイプとして分類した (Maturity-onset diabetes of the young : MODY)¹⁾。MODY は発症年齢を除いては一般の NIDDM と類似の臨床像を呈する。しかも、疾患の遺伝様式が単純であり、若年発症のために罹患者が数世代にわたって同胞に存在する家系を得ることが可能であるので、MODY は連鎖解析を用いて原因遺伝子を同定するには理想的なモデル疾患である。常染色体優性遺伝を示すことから、MODY は単一遺伝子異常により発症すると考えられた。現在までに三つの MODY 遺伝子座が連鎖解析によって染色体上に決定されている (MODY 1 ; 第 20 番染色体, MODY 2 ; 第 7 番染色体, MODY 3 ; 第 12 番染色体)^{2)~5)}。このうち MODY 2 は、筆者らの研究により膵 B 細胞のグルコースセンサーであるグルコキナーゼの遺伝子異常が原因であることが既に判明している (グルコキナーゼ異常症)³⁾。

MODY3 遺伝子のポジショナルクローニング

病態に関連したタンパク情報から出発する従来の遺伝子クローニング法では、MODY 遺伝子のような未知のタンパクをコードした遺伝子を同定することは困難であった。しかし、連鎖解析はそのような情報を必要とせずに遺伝子マッピングを行うという利点を有する (ポジ

ショナルクローニング)⁴⁾。生殖細胞での減数分裂時には、父由来と母由来の 2 本の相同染色体の相同部位で遺伝子の組み換えが生じることが知られている (図 1)。1 回の減数分裂の際に、約 30 か所において無作為に遺伝子組み換えが起こる。二つの遺伝子距離が遠ければ遠いほどその間で組み換えが生じる頻度は高くなるが、一方、近接する場合には組み換え頻度は低くなるので二つの遺伝子座はともに子に遺伝することになる。このような場合、二つの遺伝子座は連鎖しているという。染色体上には多型性に富んだ DNA マーカーが一里塚のように数多く存在するが、これらの中から疾患発症と連鎖する DNA マーカーを求めることによって疾患遺伝子座を染色体上にマップすることが可能である (図 1)。

1995 年に、MODY 発症と連鎖を示す第三の遺伝子座が第 12 番染色体長腕上にマップされた (MODY 3)⁵⁾⁷⁾。MODY 3 は MODY 2 よりも重症の糖尿病を示し、多くの患者はインスリン治療を必要とした^{5)~7)}。したがって、その原因遺伝子はインスリン合成や分泌に関与する重要なタンパクをコードすると推測された。MODY 3 はフランス人、ドイツ人、イギリス人および日本人において家系が次々と見いだされたので、若年発症型 NIDDM の相当な部分を占める可能性が示唆された。新たな家系を用いた連鎖解析を展開することによって領域をさらに 5,000 キロベース (kb) ほどに狭めた後、目的遺伝子の単離作業が開始された (図 2)。最初に、平均長 100 kb の DNA 断片により同領域全体をカバーすることが行われた。次の段階は、マップされた領域に含まれる発現遺伝子を獲得することである。筆者らと米英仏の共同研究グループはこれらの DNA 断片から約 40 個の遺伝子を検出した。得られた各遺伝子について糖尿病患者を解析したところ、転写調節因子である hepatocyte nuclear factor-1 α (HNF-1 α) をコードする遺伝子において疾患発症と連鎖した変異が見いだされた⁸⁾。そこで有意の連鎖を示した家系すべてについて検討した結果、さらに 6 個の遺伝子異常が発見された。次いで、筆者らは一般の糖尿病における HNF-1 α 遺伝子異常の頻度を検討するために NIDDM と自己免疫機序によるインスリン依存型糖尿病 (IDDM) のスクリーニングを試みた。現在のところ中年

図 1. MODY 遺伝子座近傍の組み換えと連鎖解析

染色体上で遺伝子座が遠く離れて位置する場合は、減数分裂時に二つの座位(A/a と M/m)の間で組み換え現象が起こりやすい(図左)。一方、二つの座位(B/b と M/m)が近接している場合は両者間で組み換えは生じにくく、二つの遺伝形質はともに子に遺伝する(図右)。M と m は MODY3 遺伝子座を示し、丸印は異常を有する遺伝子を表す。したがって、疾患と連鎖する既知の遺伝子座 B' を求めれば、MODY3 遺伝子座を染色体上に決定することができる。A, A', a, a' および B, B', b, b' 遺伝子座はそれぞれ多型性を利用して識別する。

以降に発症する NIDDM では遺伝子異常は発見されていないので、この遺伝子異常が一般の NIDDM の主たる原因である可能性は低いと考えられた(Yamada *et al.*, 未発表)。しかし、若年発症の IDDM においては5%の高頻度で異常が見いだされた(Yamada *et al.*, 未発表)。これらの症例は第1親等および親族に糖尿病患者が認められたので MODY 3 であると考えられた。MODY 3 にはインスリン治療を要する重症例が多いので、小児発症時に IDDM と診断されることが多いことに起因する。果たして HNF-1 α 遺伝子異常が自己免疫機序による IDDM の成因ともなりうるものかどうかは現在検討中である。本邦および欧米で見いだされた異常は、終止コドンの出現により C 端側が欠落するナンセンス変異、塩基の挿入または欠落によるアミノ酸コドンの読み枠のずれ、メッセンジャーRNAのスプライシング領域に生じた変異、および重要なアミノ酸が変換されるミスセンス変異などで

図 2. MODY3 遺伝子を単離するための戦略

- (1) 多型性マーカーを用いた連鎖解析により、責任遺伝子座の染色体における局在を決定する。
- (2) マップされた全領域を巨大 DNA 断片で重複カバーする。さらに、これらの DNA 断片から発現遺伝子を検出して候補遺伝子を選別する。
- (3) 候補遺伝子のエクソン/イントロン構造と塩基配列を決定する。
- (4) 患者遺伝子の塩基配列を検索して異常を発見する。

あった。現在までに見いだされた 22 種類の異常を表 1 に示す。HNF-1 α 遺伝子は、肝、小腸、膵および腎で発現しているが、では一体どのような機序によりこの遺伝子異常が糖尿病を起こすのであろうか。筆者らは二つの可能性を想定している。第一に、HNF-1 α は遺伝子の転写調節因子であり、インスリン遺伝子、肝および膵 B 細胞型糖輸送担体遺伝子(GLUT 2)、および MODY 2 遺伝子であるグルコキナーゼ遺伝子のプロモーター領域に HNF-1 α の結合部位が存在することから、HNF-1 α 遺伝子異常によってインスリン合成および分泌に関与する重要な遺伝子において発現異常が生じて糖尿病が発症する可能性である。第二に、この分子は器官形成や細胞分化において重要な役割を担うホメオドメインを有することから、インスリンを産生する膵 B 細胞の形成不全が糖尿病発症の背景に存在する可能性である。これらの点に関

表 1. 糖尿病患者で見いだされた HNF-1 α 遺伝子異常

(1) ナンセンス変異 (C 端側の欠落)	エクソン	1	終止コドン	7
		2		171
		3		229
		3		229
(2) ミスセンス変異 (アミノ酸の変化)	エクソン	2	コドン	Tyr-122-Cys
		2		Arg-131-Gln
		2		Ser-142-Phe
		2		Arg-159-Gln
		3		Arg-229-Gln
		3		Lys-205-Gln
		4		Cys-241-Gly
		4		Arg-272-His
		7		Pro-447-Leu
		9		Arg-583-Gly
(3) フレームシフト (読み枠のずれ)	エクソン	1	コドン	55/56 (GAGGG の欠落)
		4		291 (C の挿入)
		4		291 (G の欠落)
		6		379 (CT の欠落)
		6		379 (C の挿入)
		6		401 (C の欠落)
		9		547/548 (TG の欠落)
(4) スプライシング異常 (成熟 mRNA ができない)	イントロン	5	(AG-GG, アクセプターサイトの異常)	
		9	(GT-AT, ドナーサイトの異常)	

現在までに、本邦および欧米で見いだされた 22 種類の HNF-1 α 遺伝子異常を示す (Yamada *et al.* 未発表, Bell 私信)。HNF-1 α 遺伝子は 10 個のエクソンから構成され、エクソン 1 は 2 分子結合ドメイン、エクソン 2~4 は DNA 結合ドメイン (ホメオドメインを含む)、そしてエクソン 5~10 は転写活性化ドメインをコードする。ミスセンス変異の項の Tyr-122-Cys は、アミノ酸コドン 122 のチロシンがシステインに置換された異常を表す。ミスセンス変異が生じた部位は、ヒト、ラット、マウス、ハムスター、チキンおよびサケにおいて高度に保存されたアミノ酸残基であり、HNF-1 α のタンパク機能において重要な役割を担うと考えられる。

しては、HNF-1 α 遺伝子を欠損させたモデルマウスが既に作成されているので、近い将来、発症機構は解明されるであろう。

MODY1 の原因遺伝子

Bell らは、ミシガンの巨大なドイツ系 MODY 家系において多数の多型性マーカーを用いた連鎖解析により、責任遺伝子が第 20 番染色体長腕上のアデノシンデアミナーゼ遺伝子の近傍に存在することを見いだした²⁾。連鎖解析によって一番最初に遺伝子座が決定されたことから MODY 1 と命名されたが、その実態は約 6 年間不明であった。MODY 1 は非常にまれな疾患であったので新たな家系が得られず、マップされた領域を狭められなかったことに起因する。MODY 1 遺伝子探索はまさに頓挫した状態にあった。

さて、HNF-1 α 遺伝子は HNF-4 α によって発現調節されることがすでに明らかにされている。すなわち、遺伝子調節のヒエラルキーにおいて HNF-4 α は HNF-1 α より一段高く位置する (図 3)。しかも、HNF-4 α 遺伝子の発現の組織分布は HNF-1 α 遺伝子の分布と一致している。したがって、HNF-4 α 遺伝子に異常が存在すれば、

図 3. MODY1 および MODY3 の発症機序の仮説
HNF-4 α は発現調節機構において HNF-1 α の上位に位置する。HNF-4 α はステロイド受容体ファミリーに属するが、その調節因子は不明である。HNF-1 α は 2 分子結合体を形成して機能するが、HNF-1 β とも異種結合体を形成する。インスリン合成において重要な遺伝子の発現異常が生じるか、または膵 B 細胞の発育不全のためにインスリンの合成障害が生じて糖尿病が惹起される。

HNF-1 α 遺伝子異常と類似の糖尿病が生じる可能性が考えられた。実際、MODY 1 と MODY 3 の臨床像は類似している。そこで、患者遺伝子を直接解析したところナンセンス変異が見いだされたので、HNF-4 α 遺伝子はまさに MODY 1 遺伝子であることが判明した⁹⁾。HNF-4 α は HNF-1 α と異なり、ステロイドホルモン受容体タイプの転写調節因子であるが、その結合分子はまだ同定されていない。MODY 1 は現在までに 1 家系しか知られていないので、この遺伝子異常が一般の糖尿病の原因となる可能性は低い。HNF-4 α 遺伝子においても遺伝子欠損マウスがすでに作成されているので、MODY 1 の発症機序も MODY 3 と同様に近く解明されるものと期待される。

さいごに

MODY 3 遺伝子、続いて MODY 1 遺伝子の発見により、転写因子の異常によって糖尿病が生じることが初めて示された。このことは、遺伝子調節のヒエラルキーにおける HNF-1 α および HNF-4 α の周辺分子や結合して複合体を構成する分子、さらには、類似機能を有する転写因子ファミリーをコードする遺伝子は、未知の MODY 遺伝子のみならず現在では解明の糸口すら見いだせぬ一般の NIDDM 遺伝子の重要な候補であることを意味する。実際、これらの因子のクローニングと糖尿病者の遺伝学的解析は現在活発に行われているので、その成果によって糖尿病遺伝子研究は新たな展開を迎えるであろう。

要 約

Maturity-onset diabetes of the young (MODY) は常染色体優性遺伝を示す若年発症のインスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) である。最近、ポジショナルクローニングの戦略により MODY 3 遺伝子が同定され、さらに

この情報をもとに MODY 1 遺伝子も同定された。その結果、MODY 3 と MODY 1 は転写調節因子 (HNF-1 α と HNF-4 α) をコードする遺伝子の異常によって惹起されることが判明した。これらの知見は、インスリン合成や分泌において重要な遺伝子発現の障害や膵 B 細胞の形成不全を背景として糖尿病が発症する可能性を示唆する。

文 献

- 1) Fajans, S.S.: *Diabetes Metabol. Rev.*, **5**, 579 (1989)
- 2) Bell, G.I., Xiang, K.-S., Newman, M.V., Wu, S.-H., Wright, L.G., Fajans, S.S., Spielman, R.S. and Cox, N.J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 1484 (1991)
- 3) 武田 純: 分子糖尿病の進歩—基礎から臨床まで—1994(矢崎義雄監修), 110 (1994), 金原出版(東京)
- 4) 武田 純: 内科, **76**, 133 (1995)
- 5) Vaxillaire, M., Boccio, V., Philippi, A., Vigouroux, C., Terwilliger, J., Passa, P., Beckmann, J.S., Velho, G., Lathrop, G.M. and Froguel, P.: *Nature Genet.*, **9**, 418 (1995)
- 6) Byrne, M.M., Sturis, J., Menzel, S., Yamagata, K., Fajans, S.S., Dronsfield, M.J., Bain, S.C., Hattersley, A.T., Velho, G., Froguel, P., Bell, G.I. and Polonsky, K.S.: *Diabetes*, **45**, 1503 (1996)
- 7) 岩崎直子: 分子糖尿病の進歩—基礎から臨床まで—1996(矢崎義雄監修), 102 (1996), 金原出版(東京)
- 8) Yamagata, K., Oda, N., Kaisaki, P.J., Menzel, S., Furuta, H., Vaxillaire, M., Cox, R.D., Lathrop, G.M., Boriraj, V.V., Chen, X., Cox, N.J., Oda, Y., Yano, H., LeBeau, M.M., Yamada, S., Nishigori, H., Takeda, J., Chevre, J.-C., Fajans, S.S., Hattersley, A.T., Iwasaki, N., Pedersen, O., Polonsky, K.S., Turner, R.C., Froguel, P. and Bell, G.I.: *Nature*, **384**, 455 (1996)
- 9) Yamagata, K., Huruta, H., Oda, N., Kaisaki, P.J., Menzel, S., Cox, N.J., Fajans, S.S., Signorini, S., Stoffel, M. and Bell, G.I.: *Nature*, **384**, 458 (1996)

山田思郎, 武田 純
(群馬大学生体調節研究所遺伝子調節部門遺伝子応用分野)