Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-04

No Coding Mutations are Detected in the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-γ Gene in Japanese Patients with Lipoatrophic Diabetes

岡澤，秀樹

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2000-03-31
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲2119
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002119

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

氏名・（本籍）　岡澤秀樹（おかざわひでき）　（兵庫県）

博士の専攻分野の名称　博士（医学）

学位記番号　博い第1262号

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

学位授与の日付　平成12年3月31日

学位論文題目　No Coding Mutations are Detected in the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-γ Gene in Japanese Patients with Lipoatrophic Diabetes
（日本人脂肪萎縮性糖尿病患者においてはペルオキシソーム増殖剤応答性受容体γ遺伝子の蛋白コード領域に遺伝子変異を認めない）

審査委員　主査　教授　春日雅人
教授　片岡　徹　　教授　久野高義

論文内容の要旨

序文

脂肪萎縮性糖尿病は全身性の脂肪萎縮，高度のインスリン抵抗性，高脂血症，肝腫大を特徴とする稀な疾患である。この疾患は遺伝性，家族性の発症様式を示し，これまで様々な候補遺伝子の解析や，連鎖解析が行われてきたが，その病因は依然として不明である。一方，ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体γ（peroxisome proliferator-activated receptorγ,PPARγ）は脂肪細胞特異的核内受容体であり，脂肪細胞分化に重要な役割を果たす。またインスリン感受性改善剤である thiazolidinedione の受容体でもあることから全身のインスリン作用に重要な蛋白質であると考えられる。

PPARγの機能欠如は典型的な脂肪萎縮性糖尿病の病態を示しうると予測されることから，我々は，ヒトPPARγ遺伝子のゲノム構造を明らかとし，日本人脂肪萎縮性糖尿病患者においてその遺伝子変異検索を行った。

方法

マウスPPARγ2のcDNAを3T3－L1脂肪細胞のmRNAからreverse-transcription and polymerase chain reaction（RT-PCR）を行い入手した。それをプローブとして用い，ヒト胎盤ゲノムライブラリーより，ヒトPPARγ2遺伝子をクローニングし，その塩基配列とエクソン，イントロン境界を明らかにした。

日本人脂肪萎縮性糖尿病患者12名の白血球よりゲノムDNAを抽出し，PCR-SSCP（polymerase chain reaction and single strand comfomational porymorphism）法を用い，PPARγ遺伝子の全蛋白コード領域とPPARγ2の5’上流領域について遺伝子変異検索を行った。遺伝子変異が疑われた検体については直接シークエンスを行い塩基配列を確認した。

結果

核内受容体の一種であるPPARγにはPPARγ1とPPARγ2の二つのisoformが知られており，PPARγ

2はPPARγ1のN末側にヒトで28アミノ酸長く突出している以外は全く同じアミノ酸配列をしている。PPARγ1の発現は比較的広い範囲の臓器にその発現が見られ，それに比しPPARγ2は脂肪細胞に強い特異性を持って発現している。

ヒトPPARγ遺伝子はPPARγ2は7つのエクソンよりなり，後半6つはPPARγ1，PPARγ2共通でありPPARγ1の全蛋白コード領域を含む。PPARγ2遺伝子の5'上流にはTATA様配列，C/EBP結合配列，CCAATbox等が存在する。（GenBank/EMBL/DDBJ AB00520－AB005526に公開した。）

日本人脂肪萎縮性糖尿病患者12名について遺伝子変異の検索を行った。患者は，全例で生後早期からの全身性脂肪萎縮とそれに続く糖尿病の発症を認めた。

PPARγ1とPPARγ2のエクソン－イントロン境界を含む全蛋白コード領域とPPARγ2上流の一部を増幅するように，15セットのプライマーを設定し，PCR-SSCP解析を行った。1例でエクソン6内のコドン447にCAC（His）からCAT（His）となるサイレント変異を見い出した。またべつの2例にはエクソン2の上流にtからcへと変わる変異を見い出した。しかしサイレント変異は正常者27例中9例にも認められ，イントロン内の変異はスプライスの異常の原因となるような変異ではなかった。

考察

今回検索した12名の日本人脂肪萎縮性糖尿病患者においては，脂肪萎縮性糖尿病の原因となりうるPPARγのアミノ酸変異を見い出さなかった。また，C/EBP蛋白のうちC/EBP　βは脂肪細胞分化の初期に誘導され，PPARγの発現を増加させることが知られているが，今回調べたPPARγ2遺伝子の5'上流のC/EBP結合部位にも多型を見出さなかった。今回の検索ではPPARγ遺伝子の完全長を解析したわけではなく，より上流の遺伝子変異，またはイントロン内の変異により，脂肪萎縮性糖尿病の病因となりうる転写異常，スプライス異常を起こしている可能性は残る。しかし我々の結果から，脂肪萎縮性糖尿病患者では，少なくともPPARγ遺伝子の蛋白コード領域の塩基配列は正常であることが示された。今後はPPARγの内因性リガンドの異常が脂肪萎縮性糖尿病の原因となっている可能性も検討する必要があるだろう。

最後に，我々の結果は，脂肪萎縮性糖尿病患者のPPARγ遺伝子が正常であることから，そのリガンドであるチアゾリジン誘導体が，これらの患者におけるインスリン抵抗性，脂肪萎縮の治療に有効でありうる事を示唆するものである。

まとめ

日本人脂肪性萎縮糖尿病患者12名においてはPPARγに脂肪性萎縮糖尿病の発症要因となりうるようなアミノ酸変異を起こす遺伝子変異は認めなかった。

論文審査の結果の要旨

脂肪萎縮性糖尿病は，全身性の脂肪萎縮，高度のインスリン抵抗性，高脂血症，肝腫大を特徴とする特殊な糖尿病である。本症は糖代謝と脂質代謝の相互関連や，インスリン作用の研究などに大きな意義を持つ疾患である。これまで遺伝子連鎖解析やインスリン作用，脂質代謝に関する遺伝子群の解析が行われているが，遺伝的背景の多様性もありその病因については依然として不明のままである。

一方，近年になり核内受容体の一種であるペルオキシソーム増殖応答性受容体γ（peroxisome proliferator-activated receptor γ,PPARγ）が，脂肪細胞の分化に重要な調節因子であり，インスリン抵

抗改善薬であるチアゾリジン誘導体の選択的受容体であることが明らかとなった。

本研究では，ヒトPPARγ遺伝子をクローニングし，その塩基配列とエクソンイントロン境界をあきらかにした。PPARγにはPPARγ1とPPARγ2の二つのisoformが知られており，PPARγ2はPPARγ1のN末側にヒトで28アミノ酸長く突出している以外は全く同じアミノ酸配列をしている。PPARγ1の発現は比較的広い範囲の臓器にその発現が見られ，それに比しPPARγ2は脂肪細胞に強い特異性を持って発現している。PPARγ2は7つのエクソンよりなり，後半6つはPPARγ1，PPARγ2共通でありPPARγ1の全蛋白コード領域を含む。

PPARγ2遺伝子の5'上流にはTATA様配列，C/EBP結合配列，CCAATbox等が存在していた。日本人脂肪萎縮性糖尿病患者12名についてPPARγ1とPPARγ2のエクソン・イントロン境界を含む全蛋白コード領域とPPARγ2上流の一部について遺伝子変異解析をおこなったところ，1例でエクソン6内のコドン447にCAC（His）からCAT（His）となるサイレント変異を見い出した。またべつの2例にはエクソン2の上流にtからcへと変わる変異を見い出した。しかしサイレント変異は正常者27例中9例にも認められ，イントロン内の変異はスプライスの異常の原因となるような変異ではなかった。

今回検索した12名の日本人脂肪萎縮性糖尿病患者においては，脂肪萎縮性糖尿病の原因となりうるPPARγのアミノ酸変異を見い出さなかった。また，C/EBP蛋白のうちC/EBP　βは脂肪細胞分化の初期に誘導され，PPARγの発現を増加させることがしられているが，今回調べたPPARγ2遺伝子の5'上流のC/EBP結合部位にも多型を見出さなかった。今回の検索ではPPARγ遺伝子の完全長を解析したわけではなく，より上流の遺伝子変異，またはイントロン内の変異により，脂肪萎縮性糖尿病の原因となりうる転写異常，スプライス異常を起こしている可能性は残る。しかし脂肪萎縮性糖尿病患者では，少なくともPPARγ遺伝子の蛋白コード領域の塩基配列は正常であることが示され，そのリガンドであるチアゾリジン誘導体が，これらの患者におけるインスリン抵抗性，脂肪萎縮の治療に有効でありうる事を示唆するものである。

本研究は，脂肪萎縮性糖尿病患者においてPPARγ遺伝子の変異検索を行ったものであるが，脂肪萎縮性糖尿病の病因に関して重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって，本研究者は，博士（医学）の学位を得る資格があると認める。