

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	高 木 優 樹
主 論 文 題 名				
Heterozygous defects in <i>PAX6</i> gene and congenital hypopituitarism (<i>PAX6</i> 遺伝子のヘテロ接合性変異と先天性下垂体機能低下症)				
(内 容 の 要 旨)				
正常な下垂体前葉の発生・分化には非常に多くの転写因子あるいは液性因子が複雑なカスケードを作りながら関与している。これら転写因子・液性因子の遺伝子変異によりヒトおよび実験動物で先天性下垂体機能低下症 (Congenital hypopituitarism : CH) を発症することが報告されている。申請者は日本人CH患者91名で既知のCH責任遺伝子 (<i>POU1F1</i>, <i>PROP1</i>, <i>HESX1</i>, <i>LHX3</i>, <i>LHX4</i>, <i>OTX2</i>, <i>SOX2</i>, <i>SOX3</i>, <i>GLI2</i>) をPCR-Direct sequence法ならびにMultiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) 法で網羅的に解析し、遺伝子変異陽性率は$3/91=3.3\%$にすぎないことを報告した (副論文、Takagi <i>et al.</i> PLoS ONE, 2012)。すなわち本疾患の発症原因が大部分不明であり、現時点で未知の遺伝子異常がCH発症に関与することを強く示唆する。本研究の目的はcomparative genomic hybridization (CGH) arrayを用いた染色体微細構造変化の検出により、CHの新規責任遺伝子を同定することである。 下垂体外症状を合併した症候群性CH30例および非症候群性CH58例を加えた88例のCH患者を対象とした。全例が頭部MRIで下垂体の低形成を認め、かつ負荷試験で成長ホルモン分泌不全 (GH peak 6 ng/mL 未満) を確認されている。下垂体外症状を合併した症候群性CH30例を対象にAgilent社G3 human 180k CGH array解析を行った。非症候群性CH58例も加えた88例で<i>PAX6</i>遺伝子解析をPCR-Direct sequence法ならびにMLPA法で解析した。同定した変異型<i>PAX6</i>の機能解析 (ルシフェラーゼアッセイによる転写活性能、GFP融合タンパクによる細胞内局在、ウェスタンブロットによるタンパク発現解析、ゲルシフトアッセイによるDNA結合能) を行なった。 CGH array解析で症候群性CH30例中1例に眼の発生に必須とされる<i>PAX6</i>遺伝子のエンハンサー領域を含む310kbのヘテロ接合性欠失を、1例に<i>OTX2</i>を含む6.5Mbの欠失を同定した。非症候群性CH58例も加えた88例で<i>PAX6</i>遺伝子解析を行い1例でN116S 変異を同定した。変異型<i>PAX6</i>の転写活性能が野生型と比較して有意に低下していた。細胞内局在、ウェスタンブロット、ゲルシフトアッセイでは野生型との差は見出されなかった。N116S変異を有する個体に眼の症状は認められなかった。 本研究で以下の3つの新知見が見出された。すなわち 1) 症候群性CHにおける染色体構造異常の頻度は$2/30 = 6.7\%$、2) CH全体における<i>PAX6</i>変異陽性率は$2/88 = 2.3\%$、3) <i>PAX6</i>変異陽性CH患者は必ずしも眼症状を有さない (表現型は幅広い) である。				