

氏名(本籍)	かみ 神	や 谷	まもる 守(東京都)
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博乙第1652号		
学位授与年月日	平成12年9月30日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	The cell cycle control gene ZAC/PLAGL1 is imprinted-a strong candidate gene for transient neonatal diabetes (細胞周期制御遺伝子ZAC/PLAGL1のインプリント発現—新生児一過性糖尿病の候補遺伝子の単離)		
主査	筑波大学教授	博士(医学)	榎正幸
副査	筑波大学教授	医学博士	山本雅之
副査	筑波大学教授	医学博士	山田信博
副査	筑波大学助教授	医学博士	有波忠雄

## 論文の内容の要旨

### (目的)

ゲノミックインプリンティングとは、ある遺伝子が父親由来または母親由来のアレルより選択的に発現する現象であり、Prader-Willi症候群やAngelman症候群などの遺伝疾患に関係している。本研究は、このようなインプリンティング疾患の原因となるインプリント遺伝子の系統的な探索を目的とした。

### (対象と方法)

ヒト単為発生キメラ由来の単為発生細胞と雄核生殖を原因とする胞状奇胎の細胞を使用し、これらのサンプルのメチル化状態をRLGS-M (restriction landmark genomic scanning for methylation) 法で比較する事により、父親由来と母親由来のアレル間でメチル化に差のある遺伝子を探索した。

### (結果)

インプリント遺伝子としての挙動を示す二つの座位を発見した。一つは、インプリント疾患 pseudohypoparathyroidism (PHP) type Iaの原因遺伝子であるG蛋白 $\alpha$ サブユニット1 (GNAS1)であった。もう一つは、ZAC/PLAGL1遺伝子であり、この遺伝子が父親由来のアレルから特異的に発現する事、新生児一過性糖尿病 (transient neonatal diabetes mellitus, TNDM) の染色体領域に位置する事を明らかにした。

### (考察と結語)

インプリント遺伝子を全ゲノム中から系統的に探索する方法としては、①マウス等の系統間で交配を行い、インプリント遺伝子近傍に存在してメチル化がインプリント様式に従う領域を遺伝子多型を利用して探す方法や、②マウス初期胚の操作で作製した単為発生個体を使用し、正常細胞と発現量の差異がある遺伝子を単離する方法が知られてきた。しかしながら、いずれの方法もヒトに適用する事は不可能であった。

本研究では、Strainらの報告したヒト単為発生キメラ患者由来のリンパ球(単為発生による母性片親性イソダイ

ソミーである事が分かっている)と雄核生殖を原因として発症する胞状奇胎を用い、この二種類のサンプルのメチル化状態をRLGS-M法で比較する事により、二つのインプリント遺伝子を単離する事に成功した。RLGS-M法は全ゲノム中から2,000点以上の制限酵素ランドマークのメチル化状態を一度にスクリーニングできる強力な方法であり、NotIやAsclなどのメチル化感受性酵素を用いる事により、転写単位の近傍に存在するCpGアイランドを選択的にスクリーニングできる利点がある。

単離した遺伝子は、PHP type Iaの原因遺伝子である*GNAS1*とZinc-Finger型の転写因子をコードする*ZAC/PLAGL1*であった。*ZAC/PLAGL1*は癌抑制遺伝子でありアポトーシスを起こす事、PACAP1型受容体遺伝子を誘導することが報告されている。PACAP (pituitary adenylate cyclase activating polypeptide)は視床下部から分泌され、下垂体でcAMPを介してGHやLHを分泌させるペプチドであるが、膵臓ではグルコース存在下でインスリンの分泌を促進する。一方、この近傍にマップされるTNDMは、父方アリアル特異的に発現している遺伝子の発現量が増加することにより発症すると考えられている。

以上の点から*ZAC/PLAGL1*遺伝子がTNDMの原因遺伝子の候補として非常に有望であると考えられた。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、ヒト単為発生キメラ患者由来の母性片親性インソダイソミーのリンパ球と雄核生殖を原因として発症する胞状奇胎の細胞を用い、この二種類のサンプルのメチル化状態をRLGS-M法で比較する事により、インプリント遺伝子を系統的に探索したものである。その結果、二つのインプリント遺伝子、G蛋白 $\alpha$ サブユニット1 (*GNAS1*)と*ZAC/PLAGL1*遺伝子を単離する事に成功した事は大いに評価できる。*GNAS1*は、インプリント疾患であるpseudohypoparathyroidism (PHP) type Iaの原因遺伝子とされている。もう一方の*ZAC/PLAGL1*遺伝子は、Zinc-Finger型の転写因子をコードしており、新生児一過性糖尿病 (transient neonatal diabetes mellitus, TNDM)の領域に位置する事が明らかにされた。本研究で*ZAC/PLAGL1*遺伝子が父方アリアル特異的に発現している事が示され、TNDMとの関連が強く示唆されたが、*ZAC/PLAGL1*遺伝子がTNDMの直接の原因である事を示す証拠は提示されなかった。今後は*ZAC/PLAGL1*遺伝子の機能を明らかにする事により、TNDM発症との関連を証明する事が強く望まれる。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。