

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

最新医学 (2007.06) 62巻6号:1241～1247.

DAX-1異常症

藤枝憲二

## DAX-1 異常症

藤 枝 憲 二\*

## はじめに

DAX-1 は、副腎皮質の発生・分化のみならず、視床下部・下垂体・性腺系の分化にも重要な役割を果たす転写因子である<sup>1)</sup>。その機能喪失により、ヒトにおいては先天性副腎低形成症が発症し、DAX-1 遺伝子重複によりマウスでは性転換が見られる（ヒトでは証明されていないが）ことが報告されている<sup>2-4)</sup>。

複合型グリセロール欠損症は、X連鎖性遺伝形式をとる隣接遺伝子症候群として知られている。本症は副腎不全（AHC）、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）とグリセロールキナーゼ欠損症（GKD）を合併する。この複合型グリセロール欠損症患者では、染色体 Xp21 領域に種々の規模の欠失が見られていたことから、その欠失領域のマッピングから複合型グリセロール欠損症を形成する病態の障害遺伝子は Xpter-AHC-GKD-DMD-cen の順で存在することが明らかにされ、そして 1994 年末に、この領域から AHC の責任遺伝子である DAX-1 (dosage sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia congenita-critical region on the X chromosome, gene 1) 遺伝子がクローニングされた<sup>2)</sup>。続いて、ヒト副腎不全に低ゴナドトロピン性性腺機能低下症を伴う症候群で、DAX-1 遺伝子にナンセンス変異などの変異が存在することも証明された<sup>3)</sup>。

DAX-1 遺伝子がこれら病態の責任遺伝子であることが明らかとなったが、その後の解析から、DAX-1 の機能喪失による病態発現には多様性が見られることが明らかとなってきた<sup>5)</sup>。

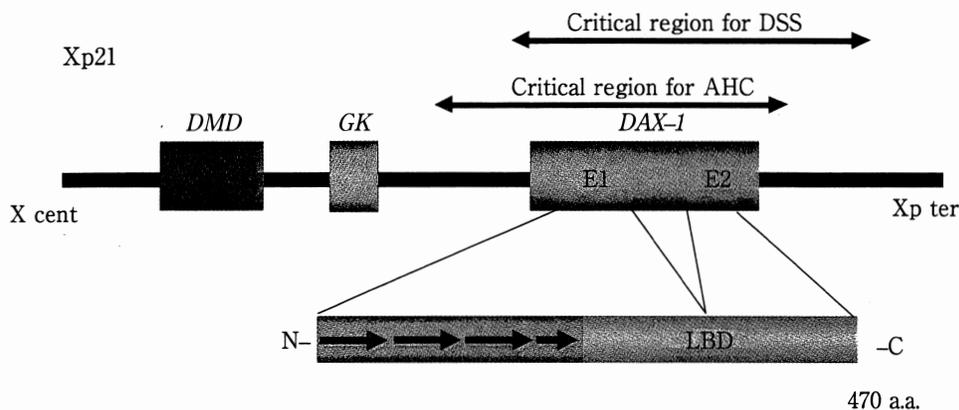
本稿では、主に DAX-1 遺伝子の機能喪失異常による病態の臨床像ならびにその分子病態について解説する。

## DAX-1 とは

DAX-1 は、核ホルモン受容体スーパーファミリーに属する新しいオーファン受容体として分類される転写因子である。ヒト DAX-1 遺伝子のゲノム構造は EcoRI 制限酵素断片部位を 4 ヶ所有し、2 個のエキソンとその間に介在する 1 個のイントロンよりなる（図 1）。ゲノム全長は 8,851bp よりなり、第 1 エキソン 1,168 bp、第 2 エキソン 245bp、イントロン 3,385 bp のサイズを有する。ヒト DAX-1 タンパク質は 470 個のアミノ酸残基よりなり、その C 末端の半分の 225 個のアミノ酸は核ホルモン受容体であるレチノイド X 受容体（RXR）やオーファン受容体である EAR-2, seven-up, COUP, ARP-1 などの E 領域と高い相同性を持つ。この E 領域はリガンド結合領域（LBD）と推定され、ホルモンとの結合、2 量体形成、転写活性化に重要であるが、DAX-1 の LBD もその構造から 2 量体を形成する可能性が示唆されている。一方、通常の核ホルモン受容体では N 末端はよく保存され、2 個の Zn フィンガーよりなる DNA 結合領域（C 領域）を形成するが、DAX-1 タンパク質においては N 末端の半分はこの C 領域が存在せず、しかるに 65 から 67 個のアラニン、グリシンリッチのアミノ酸からなるモチーフを 3 回半繰り返す配列を示すユニークな構造を有している。またこの中に C<sub>2</sub>C<sub>2</sub> Zn フィンガードメインを 2 ヶ所持つなど、他のメンバーと異なった新たな DNA 結合モチーフを有することが明らかにされている。

\* 旭川医科大学 小児科 教授

図1 DAX-1 遺伝子構造



ヒト DAX-1 mRNA のサイズは 1.9kb である。さらに、サイレンシング領域と称される転写抑制に重要な領域が2カ所同定され、コリプレッサーと相互作用するのに重要とされている。DAX-1 のN末端側に存在する LXXLL モチーフには、SF-1 と相互作用して核内に局在する働きがあることが示されている。また、細胞内局在にかかわる核内局在シグナル (NLS)、および核外移行シグナルが存在する。視床下部内側核、下垂体前葉、副腎皮質、性腺での強い発現が見られる<sup>2)</sup>。

最近、DAX-1 のエクソン1とイントロン1内にあるエクソン2 $\alpha$ によってコードされる DAX-1 のアイソフォームが同定された<sup>6)</sup>。このアイソフォーム DAX-1 タンパク質は、C末端側のリプレッサー領域の少なくとも70アミノ酸を欠如する。DAX-1 $\alpha$  は401個のアミノ酸残基よりなり、最初の389個のアミノ酸はエクソン1により、残りの12個のアミノ酸はエクソン2 $\alpha$ によってコードされている。このアイソフォームは、副腎、脳、腎臓、卵巣、精巣に発現している。DAX-1 $\alpha$  はSF-1、DAX-1と結合する。しかし、SF-1による転写活性化を抑制できない。DAX-1の拮抗作用を有する。

### DAX-1 の作用機序

DAX-1 の作用機序として、各種ステロイド

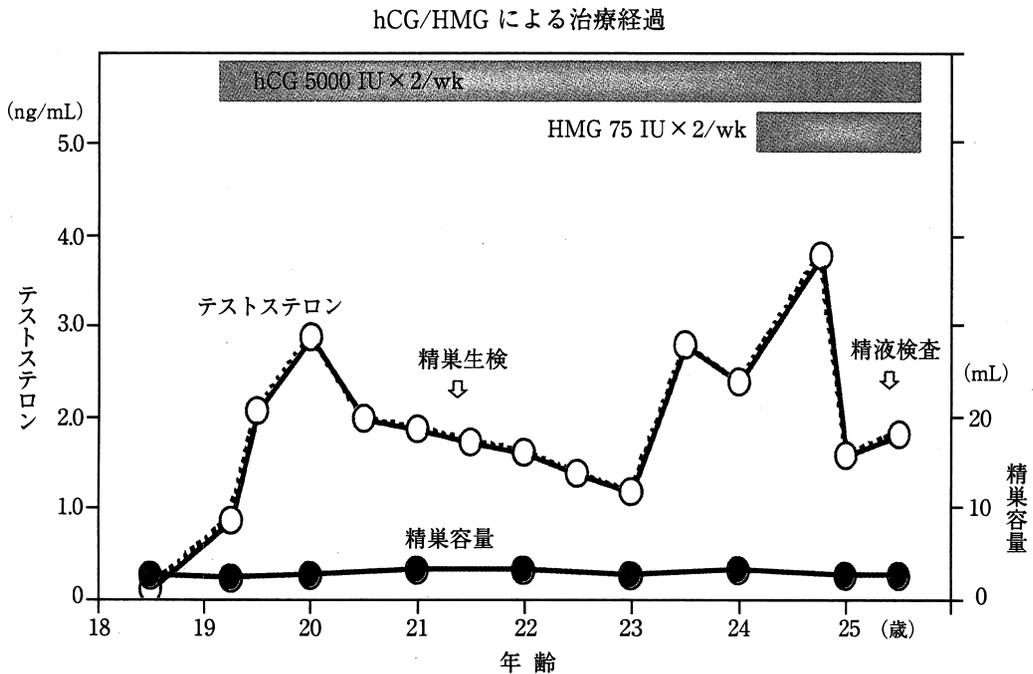
合成酵素に対して促進的に作用する SF-1 の転写活性化能を低下させることにより、ステロイド合成を全般的に抑制する転写抑制因子として作用する<sup>7)</sup>。相互作用する因子としては RAR, SF-1, エストロゲン受容体, アンドロゲン受容体, Ncor, Alien などが報告されている<sup>8)9)</sup>。標的遺伝子としてはリポイド過形成症の責任遺伝子である StAR, ミュラー管阻害因子 (MIS), CYP11B, CYP19, 3 $\beta$ -HSD, LH $\beta$ , DAX-1 などである<sup>1)10)</sup>。DAX-1 の発現調節因子としては SF-1, DAX-1, Wnt5, AR などが報告されている。また、転写後修飾機能としての役割も示唆されている。RNA との結合機能、あるいは messenger ribonucleoprotein complexes (mRNPs) への結合を介してポリリボソームとの結合が報告されている。

### DAX-1 異常症の病態

DAX-1 異常症では、副腎不全と思春期年齢に至り、低ゴナドトロピン性性腺機能低下症 (HHG) を発症する。副腎不全症状は新生児期に発症するものがほとんど (60%) であるが、中には幼児期や学童期に発症する例 (40%) が存在する<sup>11)</sup>。

副腎不全発症時期の二相性は水電解質代謝の年齢依存性、ミネラルコルチコイド産生と感受性、counter-regulatory stress responses の違

図2 DAX-1 異常による性腺機能低下症の治療経過



hCG/HMG 治療 1 年後の精液検査で重症型の乏精子症

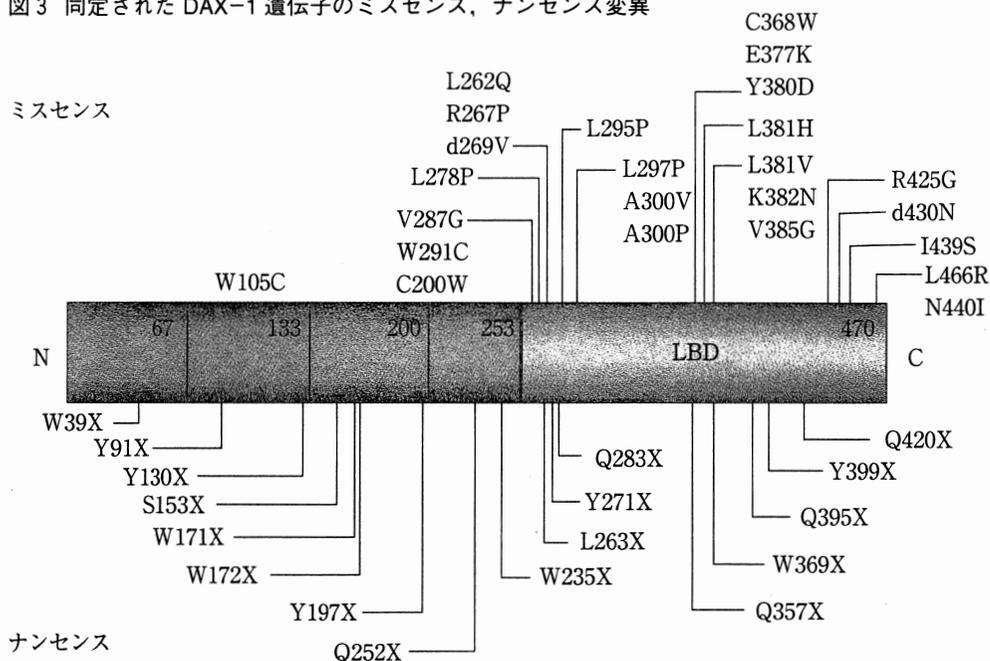
いによると推定されている。新生児期の症状は体重増加不良，嘔吐，遷延性黄疸，色素沈着，ショックなどである。生化学的に低ナトリウム血症，高カリウム血症，コルチゾール・アルドステロン低値，ACTH・レニン活性高値を呈する。しかし，中にコルチゾール正常例も見受けられる。治療として，グルココルチコイド，ミネラルコルチコイドの補償療法が必要とされる。それに反して，小児期に発症する例では嘔吐，体重減少，皮膚色素沈着などの症状は軽く，ストレスで誘発され発現されることが多い。

発症時期の遅い症例でも終止コドンがN末端側に存在する症例も多く，また同じ変異を有する同一家系内でも発症時期が異なる症例が存在するなど，臨床的重症度と終止コドンの位置には全く相関が認められない。その理由は明らかではないが，他の遺伝因子やエピジェネティックな因子が症状発現に関与しているものと推測されている。DAX-1 遺伝子異常の症例では組

織学的に胎児副腎皮質様の組織が認められ，永久層は欠如しており，cytomegalic pattern を示す。

HHG を引き起こす障害部位は内分泌学的検討から多くの場合下垂体にあるとされているが，視床下部にも障害がある例も見られ，DAX-1 の作用部位は視床下部，下垂体双方にあると推定される<sup>12)</sup>。性腺機能低下症が生後いつから認められるか興味があるが，幼児期には性腺機能が保持されている例も報告されていることから，思春期発来までのどこかで性腺機能が失われる可能性が示唆される。今後経時的にゴナドトロピン分泌を検索し，機能低下がいつ現れるか明らかにすることが DAX-1 の性腺系での機能を理解するうえで重要となろう。精巣機能に関しては，少なくとも hCG 負荷にてテストステロン産生は正常に見られることから，精巣でのステロイド産生には関与していないと考えられる (図 2)。一方 DAX-1 異常を持った症例の

図3 同定された DAX-1 遺伝子のミスセンス、ナンセンス変異



精巣の組織像において、精子形成が障害されているのが認められている。それゆえ、DAX-1 はセルトリ細胞の機能に何らかの関与を持っていると推測されている。

DAX-1 変異の女性保因者は通常無症状であるが、思春期遅発を呈した症例や、女性のホモ接合体変異例で AHC を伴わず HHG のみ発症した症例なども報告されている。また、思春期早発症を合併した症例の報告や、成人期発見例の報告もなされている<sup>13)14)</sup>。このように、DAX-1 遺伝子異常症における表現型は臨床的に多様であることが明らかになってきている。

### DAX-1 遺伝子変異

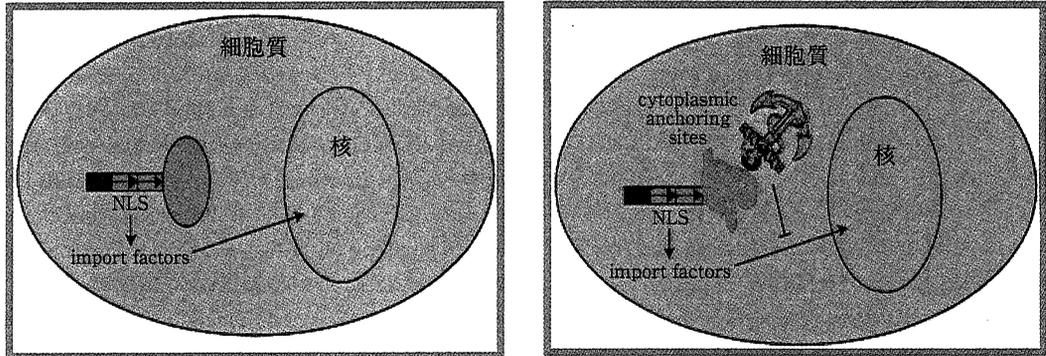
現在まで、100 種類以上の遺伝子変異が同定されている<sup>5)</sup> (図3)。そのほとんどはナンセンス変異、塩基の欠損や挿入などで、ミスセンス変異は少ない。ミスセンス変異は C 末端側の LBD に集中している<sup>15)16)</sup>。ほとんどの家系では X 連鎖劣性遺伝形式を認めるが、まれながら散発例において *de novo* 点突然変異が証明され

ている。構造機能相関上、DAX-1 には StAR 遺伝子をはじめ幾つかの遺伝子の発現を抑制する作用が報告されており、この転写サイレンシング機能は LBD に相当する C 末端側に存在し、C 末端側の約 30 アミノ酸残基を欠くことで抑制活性が消失することが明らかにされている。

副腎不全の発症が不完全であったり、また遅発型であったりする例や、思春期の発達が見られなかったりする例では、機能喪失が不完全であることが認められている。C 末端側の変異 I493S、Y380D では SF-1 による転写促進作用の抑制が部分的であり、また、Q37X、W39X 変異でも抑制効果が不十分であると報告されている。これらは、部分活性を維持する LXXLL 領域が残り、DAX-1 アイソフォームによりレスキューされる可能性が示唆されている。さらに興味深いことに、LXXLL モチーフの第 2、第 3 モチーフの間にある N 末端側にある変異である W105C 変異を持つ症例では、ミネラルコルチコイドの分泌のみが障害され、コルチゾールの分泌は正常であることが報告されている<sup>17)</sup>。

図4 DAX-1 異常症の分子病態 (文献<sup>1)</sup>より改変引用)

DAX-1 の核内移行



Import factors: SF-1 (NLS)  $\longleftrightarrow$  DAX-1 (LXXLL)

DAX-1 (LBD, AF2 core) : 核内移行に重要

表1 DAX-1 異常症のヒト, マウスでの比較

	ヒト	マウス
遺伝子	DAX-1	Ahch
発現部位		
副腎	+	+
性腺	+	+
視床下部	+	+
下垂体	+	+
機能喪失変異	副腎低形成 (永久副腎皮質の欠如, 胎児副腎の残存) 低ゴナドトロピン性 性腺機能不全	正常の副腎皮質機能 (正常の永久副腎皮質, 胎児副腎の残存) 原発性性腺機能不全
過剰発現	性転換?	性転換

変異 DAX-1 の転写活性抑制機構

DAX-1 は、核内のリボ核タンパク質構造と細胞質にあるポリリボソームに結合する nucleo-cytoplasmic shuttling protein と考えられている<sup>18)</sup>。DAX-1 の N 末端側に存在する LXXLL モチーフには、SF-1 と相互作用して核内に局在させる働きがある。また、細胞内局在にかかわる NLS, および核外移行シグナルが存在する。変異体解析の結果からは AF-2 コ

A領域が重要であり、変異体の核内局在の割合の低下に伴って転写抑制作用が減弱することも示されている<sup>19)20)</sup>。したがって、DAX-1 異常症は核内局在の異常によって起こる病態であると理解される (図4)。

DAX-1 異常症におけるヒトとマウスの臨床的差異

Dax-1 ノックアウトマウスが作製されたが、必ずしもヒトと同じ病態を呈しないことが報告

されている。ノックアウトマウスの副腎組織は胎仔副腎皮質の残存を認め、永久副腎皮質は正常に分化し、かつステロイド合成能も正常であることが示された。また、ゴナドトロピン分泌能も正常で、その表現型は HHG ではなく、精子形成障害を伴う原発性性腺機能低下症であった<sup>21)22)</sup> (表 1)。さらには、AHC マウスの卵巣は形態、機能とも正常であった。これらの結果から、ヒト、マウスの DAX-1 は違った機能を持つ可能性が示唆される。

一方、X染色体短腕の部分重複により、XY 個体に性腺形成と性管・外性器の女性化を生じることが知られている<sup>4)</sup>。この症例での解析から、DSS (dosage-sensitive sex reversal) の critical region は Xp21 上の約 160kb の領域にまで限局され、グリセロールキナーゼ遺伝子と部分的に重なっていることが明らかとなった。この領域には DAX-1 遺伝子が存在することから、DAX-1 そのものが DSS と推測されている。さらに Dax-1 のトラスジェニックマウスでは、Dax-1 の単なる過剰発現では正常雄マウスの精巣形成は遅延するものの、性転換は起こらない。しかし、Dax-1 の発現量が Sry の発現量を超えた条件下では性転換が見られることから、Dax-1 が Sry に拮抗して精巣形成に抑制的に作用する因子であり、DSS であることを支持する結果が報告されている<sup>23)</sup>。しかし、ヒトでは DAX-1 遺伝子だけの重複あるいは DAX-1 遺伝子の機能獲得変異例は同定されていない。今後 DAX-1 が DSS そのものであるかどうか、ヒトにおいての検討が必要である。

#### 文 献

- 1) Lalli E, et al: DAX-1, an unusual orphan receptor at the crossroads of steroidogenic function and sexual differentiation. *Mol Endocrinol* 17: 1445-1453, 2003.
- 2) Zanaria E, et al: An unusual member of the nuclear hormone receptor superfamily responsible for X-linked adrenal hypoplasia congenita. *Nature* 372: 635-641, 1994.
- 3) Muscatelli F, et al: Mutations in the DAX-1 gene give rise to both X-linked adrenal hypoplasia congenita and hypogonadotropic hypogonadism. *Nature* 372: 672-676, 1994.
- 4) Bardoni B, et al: A dosage sensitive locus at chromosome Xp21 is involved in male to female sex reversal. *Nat Genet* 7: 497-501, 1994.
- 5) Achermann J C, et al: Phenotypic spectrum of mutations in DAX-1 and SF-1. *Mol Cell Endocrinol* 185: 17-25, 2001.
- 6) Hossain A, et al: Generation of two distinct functional isoforms of dosage-sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia congenita-critical region on the X chromosome gene 1 (DAX-1) by alternative splicing. *Mol Endocrinol* 18: 1428-1437, 2004.
- 7) Lalli E, et al: DAX-1 blocks steroid production at multiple levels. *Endocrinology* 139: 4237-4243, 1998.
- 8) Crawford P A, et al: Nuclear receptor DAX-1 recruits nuclear receptor corepressor N-CoR to steroidogenic factor 1. *Mol Cell Biol* 18: 2949-2956, 1998.
- 9) Altincicek B, et al: Interaction of the corepressor Alien with DAX-1 is abrogated by mutations of DAX-1 involved in adrenal hypoplasia congenita. *J Biol Chem* 275: 7662-7667, 2000.
- 10) Zazopoulos E, et al: DNA binding and transcriptional repression by DAX-1 blocks steroidogenesis. *Nature* 390: 311-315, 1997.
- 11) Reutens A T, et al: Clinical and functional effects of mutations in the DAX-1 gene in patients with adrenal hypoplasia congenita. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 504-511, 1999.
- 12) Habiby R L, et al: Adrenal hypoplasia congenita with hypogonadotropic hypogonadism: evidence that DAX-1 mutations lead to combined hypothalamic and pituitary defects in gonadotropin production. *J Clin Invest* 98: 1055-1062, 1996.
- 13) Merke D P, et al: Hypogonadotropic hypogonadism in a female caused by an X-linked recessive mutation in the DAX-1 gene. *N Engl J Med* 340: 1248-1252, 1999.

- 
- 14) Tabarin A, et al: A novel mutation in DAX-1 causes delayed-onset adrenal insufficiency and incomplete hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Invest* 105: 321-328, 2000.
  - 15) Nakae J, et al: Truncation at the C-terminus of the DAX-1 protein impairs its biological actions in patients with X-linked adrenal hypoplasia congenita. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 3680-3685, 1996.
  - 16) Achermann J C, et al: Missense mutations cluster within the carboxyl-terminal region of DAX-1 and impair transcriptional repression. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 3171-3175, 2001.
  - 17) Verrijn Stuart A A, et al: An amino-terminal DAX1 (NROB1) missense mutation associated with isolated mineralocorticoid deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 755-761, 2007.
  - 18) Lalli E, et al: Orphan receptor DAX-1 is a shuttling RNA binding protein associated with polyribosomes via mRNA. *Mol Cell Biol* 20: 4910-4921, 2000.
  - 19) Kawajiri K, et al: Role of the LXXLL-motif and activation function 2 domain in subcellular localization of Dax-1 (dosage-sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia congenita critical region on the X chromosome, gene 1). *Mol Endocrinol* 17: 994-1004, 2003.
  - 20) Lehmann S G, et al: X-linked adrenal hypoplasia congenita is caused by abnormal nuclear localization of the DAX-1 protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 8225-8230, 2002.
  - 21) Yu R N, et al: Role of Ahch in gonadal development and gametogenesis. *Nat Genet* 20: 353-357, 1998.
  - 22) Meeks J J, et al: Dax1 is required for testis determination. *Nat Genet* 34: 32-33, 2003.
  - 23) Swain A, et al: Dax1 antagonizes Sry action in mammalian sex determination. *Nature* 391: 761-767, 1998.
- 

### DAX-1 Abnormality

Kenji Fujieda

Department of Pediatrics, Asahikawa Medical College