



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

II. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2017ko maiatzaren 10, 11 eta 12
Iruñea, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

OSASUN ZIENTZIAK

STAT3 transkripzio faktorean gertatutako mutazio aktibatzaile batek jaioberriko diabetesa eragiten du insulina sintesia murriztuz

Teresa Velayos, Rosa Martínez, Milagros Alonso, Koldo Garcia-Extebarria, Anibal Aguayo, Cristina Camarero, Ines Urrutia, Idoia Martínez de Lapiscina, Raquel Barrio, Luis Castaño eta Izortze Santin

10-17 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.ii.04.01>

ANTOLATZAILEA:



ELKARLANEAN:



LAGUNTZAILEAK:

eman ta zabal ezazu



UDALBILTZA



Universidad de Navarra

STAT3 transkripzio faktorean gertatutako mutazio aktibatzaile batek jaioberriko diabetesa eragiten du intsulina sintesia murriztuz

Velayos Teresa¹, Martínez Rosa¹, Alonso Milagros², Garcia-Etxebarria Koldo³, Aguayo Anibal¹,
Camarero Cristina², Urrutia Ines¹, Martínez de LaPiscina Idoia¹, Barrio Raquel², Castaño Luis¹,
Santin Izortze¹

¹Endocrinologia eta diabetes ikerketa taldea, Guruzetako unibertsitate ospitalea, BioCruces,
CIBERDEM, CIBERER, UPV-EHU, Barakaldo, Euskal herria, Espainia

²Endocrinologia pediatrikoa, Ramon y Cajal unibertsitate ospitalea, Madrid, Espainia

³Immunogenetika laborategia, Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalia Fisiologia Saila, Biocruces,
UPV-EHU, Leioa, Euskal Herria, Espainia

teresa.velayosgainza@osakidetza.eus

Laburpena

Jaioberriko diabetes mellitusa (DMN) bizitzako lehen sei hilabeteetan garatzen den diabetes mota arraro bat da. Kasu gehienetan diabetes isolatu bezala ematen da, baina agertu daiteke beste egoera patologiko batzuekin batera, gaixotasun autoimmuneak kasu. Exoma osoaren sekuentziazioaren bitartez *STAT3* transkripzio faktorearen DNARA lotzeko domeinuan mutazio aktibatzaile berri bat identifikatu dugu jaioberriko diabetesa duen paziente batean. Gure ikerketa funtzionalek agerian utzi dute mutazio honek *STAT3* transkripzio faktorearen hiperaktibazioa eragiten duela eta honek, era berean, eragina duela zelula beta pankreatikoaren funtzioan. Konkreteki, identifikatutako mutazioak Isl-1 transkripzio faktorearen inhibizioa eragiten du eta ondorioz, intsulinarean adierazpena gutxitzen da.

Hitz gakoak: jaioberriko diabetesa, *STAT3*, mutazio aktibatzailea, Isl-1, intsulina.

Abstract

Neonatal diabetes mellitus (NDM) is a rare form of diabetes diagnosed within the first 6 months of life. Most cases of NDM involve isolated diabetes, but sometimes NDM appears in association with other pathological conditions, including autoimmune diseases. By using whole-exome sequencing, we identified a novel missense mutation in the binding domain of the STAT3 protein in a patient with NDM. The functional analyses showed that the mutation results in an aberrant activation of STAT3, leading to deleterious downstream effects in pancreatic b-cells. The identified mutation leads to hyperinhibition of the transcription factor Isl-1 and, consequently, to a decrease in insulin expression.

Key words: neonatal diabetes, STAT3, activating mutation, Isl-1, insulin.

1. Sarrera

Jaioberriko diabetes mellitusa (DMN) bizitzako lehen sei hilabeteetan garatzen den diabetes mota arraro bat da (Murphy R et al., 2008; Naylor RN et al., 2011; Vaxillaire M et al., 2009). DMN kasuen erdia iragankorra den arren, badaude iraunkorrak diren kasuak, eta azken hauek tratamendua behar dute bizitza osoan zehar (Murphy R et al., 2008; Naylor RN et al., 2011; Vaxillaire M et al., 2009). Ikerketa genetikoek gaixotasun honi asoziatu hainbat mutazio puntual eta alterazio kromosomiko identifikatu dituzte 20 genetan, gene hauek, beta zelulen garapenean, glukosaren metabolismoan, mintzaren despolarizazioan edota apoptosian parte hartzen dutelarik (Murphy R et al., 2008). Kasu ohizkoenak 6q24 eskualdearen, KATP kanalak kodifikatzen dituzten geneetako (*KCNJ11* eta *ABCC8*) alterazioek edota intsulina genearen alterazioek eragiten dituzte.

Kasu gehienetan diabetes isolatu bezala aurkezten da, baina agertu daiteke beste egoera patologiko batzuekin batera, gaixotasun autoimmuneak kasu (Polak M et al., 2007). Egoera horren adibiderik ohizkoena IPEX sindromea da, zeina *FOXP3* genean agertzen diren mutazioek eragiten duten (Bennet CL

et al., 2001; Verbsky JW et al., 2013). Berriki argitaratutako ikerketa batek, *STAT3* genearen (Signal Transducer and Activator of Transcription 3) mutazio aktibatzaileak diabetesa barneratzen duen garapen goiztiarreko gaixotasun autoimmune batekin asoziatu dituzte (Flanagan SE et al., 2014).

STAT3 transkripzio faktorea, seinale desberdinek aktibatzen dute, zitokinak, hazkuntza faktoreak edota hormonak, besteak beste (Abroun S et al., 2015; Levy DE et al., 2002). Transkripzio faktore honen aktibazioa zitoplasman gertatzen da, eta funtzio biologiko desberdinen erregulazioan parte hartzen du, adibidez, zelulen diferentziazioan, zelulen proliferazioan, apoptosian edota inflamazioan (Abroun S et al., 2015; Levy DE et al., 2002). Transkripzioaren aktibatzaile edo inhibitzaile bezala joka dezake, beste transkripzio faktore batzuekin edo koaktibatzaile/koerpresoreekin elkarrekinez (Caldenhoven E et al., 1996). Pankrean, *STAT3* transkripzio faktorearen bidezidorrak oinarritzkoak dira organo honen funtzio endokrinoaren garapen eta mantentze egokirako (Kostromina E et al., 2010). Arratoietan eginiko ikerketetan ikusi da leptinaren bidezko *STAT3* faktorearen aktibazioak oinarritzko eginkizuna duela intsulina jarioaren inhibizioan (Chen J et al., 2013).

2. Ikerketaren helburuak

Ikerketa genetikoek gaixotasun honi asoziatu hainbat mutazio puntual eta alterazio kromosomiko identifikatu dituzten arren, DMN duten %20aren erantzule genetikoak identifikatzeko daude (Naylor RN et al., 2011). Gaixo bakoitzaren diabetesaren etiologiaren ezagutza handitzeaz gain, erantzule genetikoaren identifikazioak ezinbesteko informazioa ematen du tratamendu eta aholku genetiko egokiak ematerako orduan. Era berean, paziente bakoitzean diabetesak izango duen bilakaera auresatea baimentzen du.

Hori dela eta, ikerketa honen helburu nagusiak bi dira.

- 1) Diabetes neonatalari asoziatu gene berrien bilaketa, exoma osoaren sekuentziazioaren bitartez
- 2) Identifikaturiko mutazio potentzialen *in vitro* azterketa funtzionala zelula beta pankreatikoetan

3. Ikerketaren muina

3.1. Mutazioen bilaketa exoma osoaren sekuentziazioaren bitartez

Exoma osoaren sekuentziaziorako, DMN pairatzen duen emakume bat eta bere gurasoak aukeratu ziren. Sekuentziazioaren ostean, lorturiko datuak erreferentziazko giza genoma (UCSC GRCh37/hg19) erabilia mapeatu ziren. Mapaketa hau, duplikatuen ezabaketa, kalitaterako errekalibrazioa, SNP/DIP identifikazioa eta anotazioa *Whole-Exome sequencing Pipeline web tool* lanabes informatikoaren laguntzaz burutu ziren (D'Antonio M et al., 2013). Behin kalitate parametroak aplikatuta, irizpide desberdinak ezarri genituen filtrazioarekin jarraitzeko, hautagai posible bat bilatzeko helburuz. Horretarako, gaixotasunaren izaera genetiko eta klinikoa kontuan hartu genituen.

Jarraian, *in silico* predikzioa erabili genuen bariante horietatik potentzialki kaltegarriak izan zitezkeenak aukeratzeko. Horrela, 4 bariantekin geratu ginen. Azkenik, bilaketa bibliografiko bat burutu genuen PUBMED datubasean, aukeraturiko lau gene horiek zelula pankreatikoekin erlazioaturiko funtzio interesgarriak zuten ikusteko (pankrearen garapena, beta zelula pankreatikoen diferentziazioa, eta abar.).

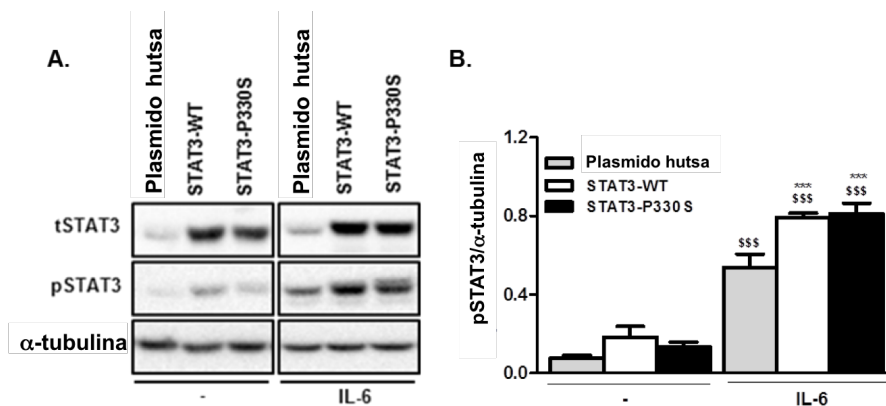
Filtro eta bilaketa horien ostean, *STAT3* genean identifikatu genuen bariantea aukeratu genuen gaixotasunaren kausa genetiko potentzial bezala (c.988C>T; p.Pro330Ser). Alterazioa Sanger sekuentziazioaren bidez baieztatu genuen pazientean, eta baztertu gurasoen kasuan. *STAT3* transkripzio faktoreak duen DNA lotzeko domeinuan kokatzen zela ikusi genuen, domeinu horretan kokaturiko mutazioak garapen goiztiarreko gaixotasun autoimmuneari asoziatu deskribatu direlarik (Haapaniemi EM et al., 2015; Milner JD et al., 2015; Wienke J et al., 2015).

3.2 STAT3 transkripzio faktorean identifikaturiko mutazioaren karakterizazioa

STAT3 transkripzio faktorea fosforilazio bidez aktibatzen da. Horrek, transkripzio faktorearen dimerizazioa, nukleorako translokazioa eta DNARA lotzea eragiten du (Darnell Je et al., 1994). Aurretiaz deskribatu izan da STAT3ak dituen zenbait Serinetan gertaturiko aldaketek fosforilazioan eragina izan ditzaketela, baita aktibazio prozesuan ere (Decker T eta Kovarik P, 2000). Guk identifikaturiko mutazio berriak 330 posizioan dagoen Prolina (fosforilatu ezin daitekeen aminoazidoa) Serina (fosforilatu daitekeen aminoazidoa) batengatik ordezkutzen du, beraz fosforilatu daitekeen gune potentzial berri bat sortzen da eta honek aktibazioan eragina izan dezake.

Zenbait estimulu aktibatu dezakete STAT3 transkripzio faktorea, horien artean interleukina 6 (IL-6) zitokina. Hori dela eta, STAT3 proteinaren kantitate maila neurtu genuen bai egoera basalean baita IL-6 bidez eginiko tratamenduaren ostean ere (1. Irudia). Egoera basalean zein IL-6rekin eginiko tratamendurekin, STAT3 proteina totalaren (tSTAT3) maila oso baxua zen. Aldiz, gainadierazpen plasmidoekin transfektaturiko zeluletan, bai WT eta bai mutantearen kasuan, STAT3 totalaren maila altuagoa zen (1A irudia). Egoera basalean, STAT3 fosforilazio maila oso baxua zen (pSTAT3) eta ez zen desberdintasunik antzematen WT eta STAT3 mutantearekin transfektaturiko zelulen artean (1A-1B irudiak). IL-6 zitokinarekin eginiko tratamenduak STAT3 proteinaren fosforilazioa areagotzen zuen baina desberdintasunik ez zen nabaritzen WT eta STAT3 mutatuarekin transfektaturiko zelulen artean. Emaitza horiekin ondorioztatzen dugu P330S mutazioak ez duela eraginik STAT3aren fosforilazio mailan, ez tratamendurik gabeko baldintzapean, ezta trataturiko baldintzapean ere.

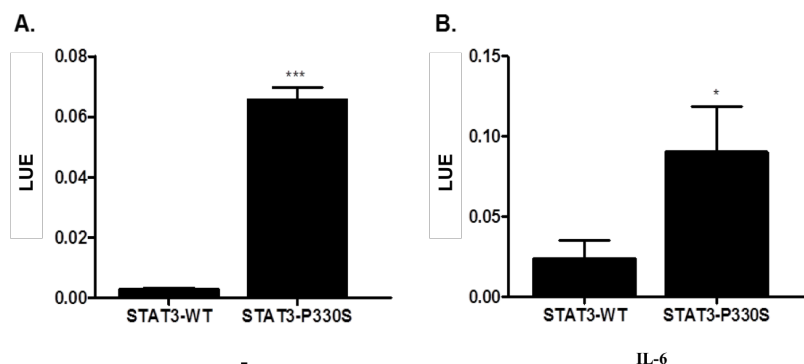
1. Irudia. STAT3 proteina mailaren analisia.



(A-B) INS-1E zelulak plasmido hutsarekin edo STAT-WT eta STAT3 mutantearekin (STAT3-P330S) transfektatu ziren. Zelulak tratatu gabe uzi ziren (-) edo IL-6rekin (20ng/ml) tratatu ziren 12 orduz. STAT3 totalaren (tSTAT3) eta fosforilatutako STAT3ren (pSTAT3) adierazpena Western blot bidez neurtu zen α -tubulina kontrol bezala erabiliz. Emaitzak hiru esperimentu independenteren erakusgarri dira (A) eta dentsitometria emaitzak (B) batezbestekoa \pm batezbestekoaren errore tipikoa bezala adierazita daude. ^{SSS}p < 0.001 vs (-) eta plasmido berdinarekin transfektaturikoak; ^{***}p < 0.001 vs plasmido hutsa IL-6 tratamendurekin (t testa).

Bestalde, mutazioa DNARA lotzeko domeinuan kokatuta egonik, eta jakinik, STAT3aren funtzioa beste gene batzuen transkripzioa erregulatzea dela, mutazioak STAT3aren aktibitate mailan eraginik zuen aztertu genuen (2. Irudia). Horretarako luziferasa esperimentu bat egin genuen. Trataturik gabeko zeluletan, STAT3 mutantearen aktibitatea 23 aldiz handiagoa da STAT3-WTarekin konparatzen badugu (2A irudia). Mutazioak aktibitatearen areagotzea eragiten du ere IL-6rekin tratatuz gero, baina kasu honetan emendapena txikiagoa da (3.8 inguru) (2B irudia). Emaitza hauek frogatzen gute P330S mutazioak STAT3 transkripzio faktorearen hiperaktibazioa eragiten duela eta aktibazio hau fosforilazio egoerarekiko independentea dela.

2. Irudia. STAT3 transkripzio faktorearen aktibitatearen analisisa



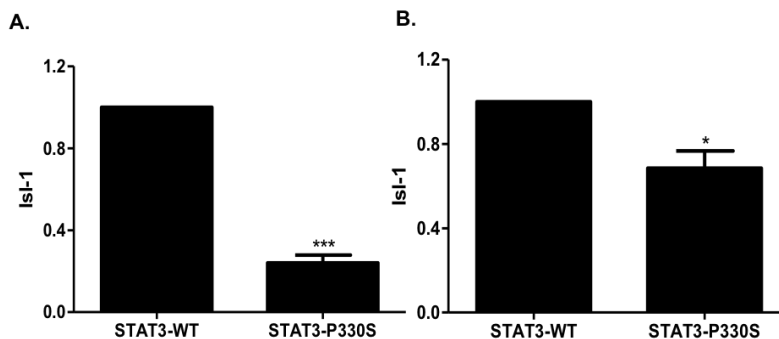
(A-B) INS-1E zelulak STAT3-WT edo STAT3-P330S, eta STAT3ari erantzuten dion luziferasa daraman plasmidoarekin transfektatu ziren. 24 ordu eta gero, zelulak tratatu gabe uzi ziren (-) edo IL-6rekin (20ng/ml) tratatu ziren 12 orduz. Ostean luziferasa aktibitatea neurtu zen. Emaitzak 6 esperimentu independenteren batezbestekoa \pm batezbestekoaren errore tipikoa dira eta luziferasa unitate erlatibo (LUE) bezala adierazita daude. *** $p < 0.001$ eta * $p < 0.05$ vs STAT3-WT plasmidoarekin transfektatutakoak (*t* testa).

3.3. STAT3 faktorearen hiperaktibazioak zelula beta pankreatikoan dituen eraginaren analisisa

Kontuan izanik STAT3ak funtzio garrantzitsuak dituela beta zeluletan, adibidez, insulina jarioaren erregulazioan (Chen J et al., 2013; Kostromina E et al., 2010), identifikaturiko mutazioak bidezidor horietan izan dezakeen eragina aztertzea erabaki genuen. Intsulinarean adierazpena transkripzio faktore desberdinek erregulatzen dute, adibidez, Pax4, Nkx6.1, Maf, Foxa, Pdx1, eta Isl-1. Iragarpen bioinformatiko baten bitartez ikusi genuen intsulinarean adierazpena erregulatzen zuten transkripzio faktoreen artean hiruk (Isl-1, PAX6 eta LMX1A) STAT3 lotzeko domeinu potentzialak dituztela beraien promotoreetan.

Ikerketa lerro hau jarraituz, gure mutazioak Isl-1, PAX6 eta LMX1A transkripzio faktoreen adierazpenean eraginik zuen aztertu genuen bai arratoi zeluletan eta bai giza zeluletan. Analisi hau burutzeko, transkripzio faktore hauen mRNA maila aztertu zen WT eta STAT3 mutantearekin transfektaturiko zeluletan. PAX6 eta LMX1A adierazpenean aldaketarik nabaritzen ez zen bitartean (ez da irudia erakusten), Isl-1 faktorearen adierazpena %75 eta %32 murrizten zen arratoi eta giza zeluletan hurrenez hurren (3. Irudia).

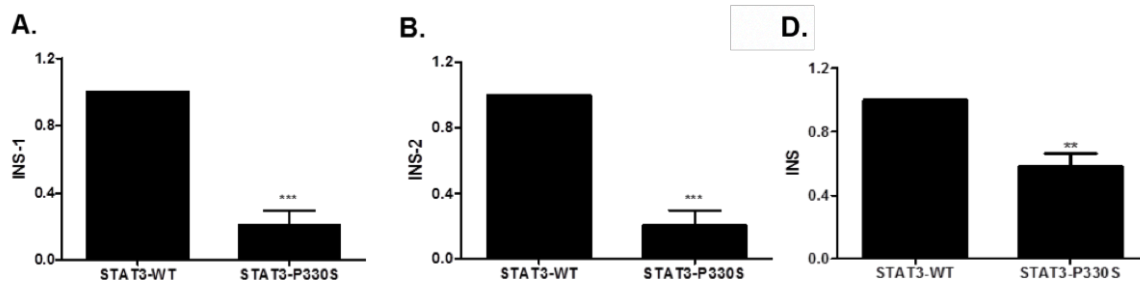
3. Irudia. Isl-1 transkripzio faktorearen adierazpen analisisa arratoi eta giza zeluletan.



(A) INS-1E zelulak (arratoi-zelulak) eta (B) EndoC- β H1 zelulak (giza-zelulak) STAT3-WT eta STAT3-P330S mutantearekin transfektatu ziren. Isl-1 transkripzio faktorearen adierazpena aztertu zen GAPDH (A) eta β -aktina (B) normalizaziorako kontrol bezala erabiliz. Emaitzak STAT3ren adierazpenarekiko ere normalizatu ziren transfekzio efizientziaren desberdintasunak kontrolatzeko. Emaitzak lau (A) eta sei (B) esperimentu independenteren erakusgarri dira, batezbestekoa \pm batezbestekoaren errore tipikoa bezala adieraziak. *** $p < 0.001$ eta * $p < 0.05$ vs STAT3-WT (*t* testa).

Gure mutazioak intsulinarean adierazpenean eragina zuen ikusteko helburuz, intsulinarean adierazpena aztertu genuen WT eta STAT3 mutantearekin transfektaturiko zeluletan. Arratoi zeluletan, INS-1 eta INS-2 geneen adierazpena murriztu egiten zen %70ean STAT3 mutantearekin transfektaturiko zeluletan (4A eta 4B irudiak). Giza zeluletan ere INS adierazpena jaisten zen, kasu honetan %42 inguru (4D irudia).

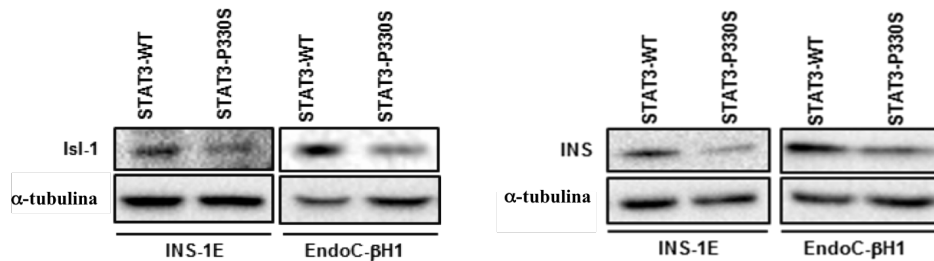
4. Irudia. Intsulinarean adierazpen analisia arratoi eta giza zeluletan.



INS-1E zelulak (A) eta EndoC- β H1 zelulak (B) STAT3-WT eta STAT3-P330S mutantearekin transfektatu ziren. Intsulinarean adierazpena aztertu zen GAPDH (A) eta β -aktina (B) normalizaziorako kontrol bezala erabiliz. Emaitzak STAT3ren adierazpenarekiko ere normalizatu ziren transfekzio efizientziaren desberdintasunak kontrolatzeko. Emaitzak lau (A) eta sei (B) esperimentu independenteren erakusgarri dira, batezbestekoa \pm batezbestekoaren errore tipikoa bezala adieraziak. *** p <0.001 eta * p <0.05 vs STAT3-WT (t testa).

5. irudian apreziatu daitekeen bezala, mRNA mailan ikusitako Isl-1 transkripzio faktorearen eta intsulinarean adierazpen murrizpena proteina mailan ere ikusi daiteke bai arratoi zeluletan baita bai giza zeluletan ere.

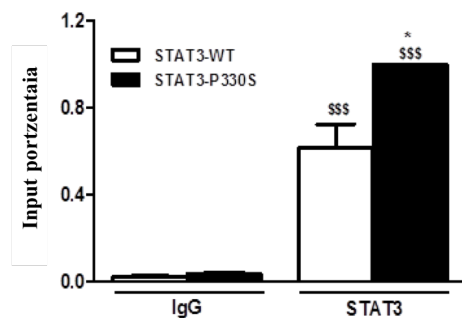
5. Irudia. Isl-1 eta Intsulinarean adierazpena proteina mailan.



Isl-1 eta intsulina proteinen adierazpena STAT3-WT eta STAT3-P330S mutantearekin transfektaturiko zeluletan. α -tubulina kontrol bezala erabili zen bai arratoi zeluletan baita giza zeluletan ere.

Kromatinaren immunoprezipitazioa (ChIP) erabili genuen STAT3 mutanteak Isl-1 transkripzio faktorearen promotorera lotzeko afinitate handiagoa zuen ikusteko. Horretarako, INS-1E zelulak WT edo STAT3 mutantearekin transfektatu ziren. STAT3rekiko espezifiko den antigorputzaren bitartez prezipitatutako DNA zatiak hartu eta PCR kuantitatiboaren bidez Isl-1 promotorean dagoen eta STAT3 lotzeko eskualde potentziala den -1262tik -1143ra doan eskualdea amplifikatu genuen (aurretik eginiko beste ikerketa batean ikusi da eskualde horrek STAT3ak ezagutzen duen sekuentzia duela (Chen J et al., 2013). 6. irudian erakusten den bezala, STAT3 mutanteak STAT3-WT baino afinitate handiagoa du Isl-1 promotorera lotzeko.

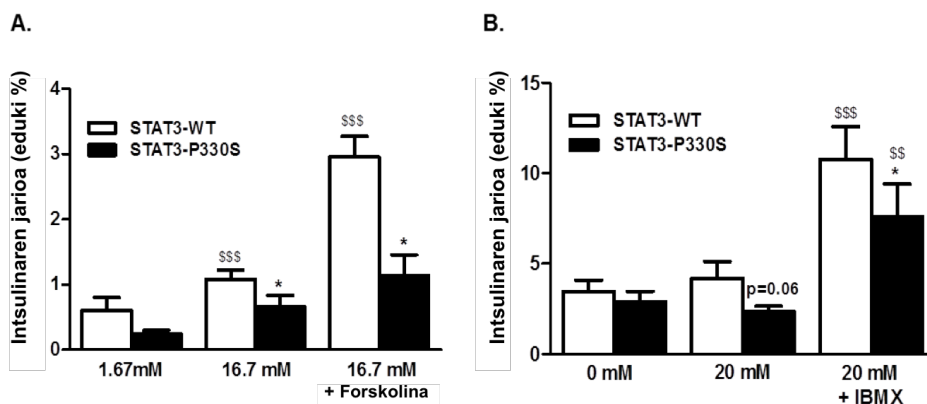
6. Irudia. Kromatinaren immunoprezipitazio-analisia.



ChIP analisiak erakusten du nola STAT3-P330S mutanteak Isl-1 promotorera lotzeko gaitasun handiagoa duela STAT3-WT-arekin konparatuta. IgG antigorputza erabili zen kontrol modura. Emaitzak lau esperimentu independenteren batezbestekoa \pm batezbestekoaren errore tipikoa dira, inputaren portzentai bezala adieraziak. * $p < 0.05$ vs STAT3-WT plasmidoarekin transfektatutako zelulak; $^{SSS}p < 0.001$ vs IgG eta plasmido berdinarekin transfektatutako zelulak (t testa).

Intulina adierazpena murrizteaz gain, mutazioak bere jarioan ere eragina duen ala ez aztertzeko, glukosa bidezko estimulazio osteko intulina jarioa analizatu genuen WT eta STAT3 mutantearekin transfektaturiko zeluletan. 7. irudian ikusi daitekeen bezala, INS-1E zelulen kasuan (7A irudia), WT STAT3ekin transfektaturiko zeluletan intulina jarioaren areagotzea ikusi daiteke glukosa kontzentrazioa emendatzen doan heinean. Aldiz, STAT3 mutantearekin transfektaturiko zelulen kasuan, %60 murrizten da intulinaren jarioa glukosa kontzentrazio baxuarekin zein kontzentrazio altua eta forskolinarekin trataturiko zeluletan. Glukosa kontzentrazio altupean, %40a jaisten da jarioa STAT3-WT-arekin konparatuta (7A irudia). Emaitza horiek giza zeluletan ere baieztatzen dira (7B irudia).

7. Irudia. Intulinaren jarioaren analisia glukosa kontzentrazio desberdinen estimulazioaren ostean.



INS-1E zelulak (A) eta EndoC- β H1 zelulak (B) STAT3-WT eta STAT-P330S mutantearekin transfektatu ziren. Zelulak glukosa kontzentrazio desberdinekin tratatu eta intulina jarioa neurtu zen. Emaitzak STAT3ren adierazpenarekiko normalizatu ziren transfekzio efizientziaren desberdintasunak kontrolatzeko. Emaitzak sei esperimentu independenteren erakusgarri dira, batezbestekoa \pm batezbestekoaren errore tipikoa bezala adieraziak. * $p < 0.05$ vs. STAT3-WTekin transfektaturiko zelulak, glukosa kontzentraziope berdinean; $^{SSS}p < 0.001$ eta $^{SS}p < 0.01$ vs. 1,67 mmol/L glukosa (A) edo 0 mmol/L glukosa (B) eta plasmido berdinarekin transfektaturiko zelulak (t testa).

4. Ondorioak

Ikerketa honetan, exoma osoko sekuentziazioaren bitartez, Jaioberriko Diabetesari (eta beste kondizio patologiko autoimmune batzuei) asoziatutako mutazio aktibatzaile berri bat identifikatu dugu STAT3 transkripzio faktorean. Gure analisi funtzionalen arabera, identifikatutako mutazioak intulinaren sintesian du eragina. Zehazki, intulina sintesia murrizten du Isl-1 transkripzio faktorearen inhibizioa eraginez.

Aurretiaz eginiko ikerketek mutazio aktibatzaile hauek autoinmunitate goiztiar batekin erlazionatzen dituzten arren, gure ikerketak insulina jariapenean eragin zuzena duela frogatzen du lehen aldiz. Emaitza guztiak bateratuz, badirudi mutazio aktibatzaileek jaioberriko diabetesa bi mekanismo kontrajarriren bidez eragiten dezaketela, hots, zelula immuneen erregulazioa aldatuz eta beta zelula pankreatikoen disfuntzioa eraginez.

Badirudi mutazio honek STAT3ak duen DNARA lotzeko gaitasuna areagotzen duela eta beraz, transkripzioa erregulatzeko ahalmena. Gure emaitzak bat datoz beste ikerketa batzuekin, zeintzuek DNA lotzeko domeinuan kokaturiko eta garapen goiztiarreko gaixotasun autoimmuniari asoziatutako beste mutazio aktibatzaile batzuk aztertu dituzten. Ikerketa horiek ere frogatu dute STAT3aren aktibitatea handitzen dutela (Flanagan SE et al., 2014).

Mutazio honek beta zelulen biziraupenean eraginik ez duen arren (ez dira emaitza hauek erakusten), ezin dugu baztertu mutazio honek beste eragin potentzial batzuk izan ditzakeela beta zelula mailan. Izan ere, frogatua dago STAT3ren aktibazio konstitutiboak ziklo zelularren erregulazioan eragina duela eta apoptosia eragiten duela beste zelula mota batzuetan (Al Zaid Siddiquee K eta Turkson J, 2008). Pankrea mailan, STAT3ak beta zelulen ziklo zelularra modulatu du eta DNA kalteetatik babesten du (Pan Y et al., 2016). Baita ere ikusi izan da STAT3rako *knock out* diren arratoiek insulina jarioaren prozesuan akatsak dituztela eta islote pankreatikoen egitura ez dela normala (Gorogawa S et al., 2004).

5. Etorkizuna

Ikerketa honetan, jaioberriko diabetesari asoziatutako mutazio aktibatzaile berri bat identifikatu dugu STAT3 transkripzio faktorean. Frogatu dugu mutazioak eragiten duen hiperaktibazioak eragin zuzena duela insulinarren jarioan, STAT3 transkripzio faktorearen DNA lotzeko gaitasuna emendatzen duelako. Hala ere, DNARA lotzeko gaitasun horren emendapenaren mekanismoa oraindik ez dugu argitu. Beraz, hurrengo pausua mekanismo honen azterketa izango litzateke.

Horretaz gain, jakinik, STAT3an identifikatu diren beste mutazio batzuek T zeluletan ere eragina dutela, guk identifikatutako mutazioak zelula horietan zein eragin duen aztertzea ere interesgarria litzateke. Izan ere, mutazio hau daraman gaixoak baditu ere autoimmuneak diren ezaugarriak, hipotiroidismo autoimmunea kasu.

6. Erreferentziak

Abroun S, Saki N, Ahmadvand M, et al. (2015), STATs: An Old Story, Yet Mesmerizing, *Cell J*, 17, 395-411.

Al Zaid Siddiquee K, Turkson J. (2008), STAT3 as a target for inducing apoptosis in solid and hematological tumors, *Cell Research*, 18, 254-67.

Bennett CL, Christie J, et al. (2001), The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3, *Nat Genet*, 27, 20-21.

Caldenhoven E, van Dijk TB, et al. (1996), STAT3 β , a splice variant of transcription factor STAT3, is a dominant negative regulator of transcription, *J Biol Chem*, 271, 13221-13227.

Chen J, Fu R, Cui Y, et al. (2013), LIM-homeodomain Transcription Factor Isl-1 Mediates the Effect of Leptin on Insulin Secretion in Mice, *J Biol Chem*, 288, 12395–12405.

D'Antonio M, D'Onorio De Meo P, et al. (2013), WEP: a high-performance analysis pipeline for whole-exome data, *BMC Bioinformatics*, 14, S11.

Darnell JE, Kerr IM, et al. (1994), Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins, *Science*, 264, 1415-21.

Decker T, Kovarik P. (2000), Serine phosphorylation of STATs, *Oncogene*, 19, 2628-37.

Flanagan SE, Haapaniemi E, et al. (2014), Activating germline mutations in STAT3 cause early-onset multi-organ autoimmune disease, *Nat Genet*, 46, 812-814.

Gorogawa S, Fujitani Y, et al. (2004), Insulin secretory defects and impaired islet architecture in pancreatic beta-cell-specific STAT3 knockout mice, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 319, 1159-70.

Haapaniemi EM, Kaustio M, et al. (2015), Autoimmunity, hypogammaglobulinemia, lymphoproliferation, and mycobacterial disease in patients with activating mutations in *STAT3*, *Blood*, 125, 639-648.

Kostromina E, Gustavsson N, et al. (2010), Glucose Intolerance and Impaired Insulin Secretion in Pancreas-Specific Signal Transducer and Activator of Transcription-3 Knockout Mice Are Associated with Microvascular Alterations in the Pancreas, *Endocrinology*, 151, 2050–2059.

Levy DE, Darnell JE Jr. (2002), Stats: transcriptional control and biological impact, *Nat Rev Mol Cell Biol*, 3, 651- 662.

Milner JD, Vogel TP, et al. (2015), Early-onset lymphoproliferation and autoimmunity caused by germline STAT3 gain-of-function mutations, *Blood*, 125, 591-599.

Murphy R, Ellard S, Hattersley AT. (2008), Clinical implications of a molecular genetic classification of monogenic β -cell diabetes, *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 4, 200–213.

Naylor RN, Greeley SA, et al. (2011), Genetics and pathophysiology of neonatal diabetes mellitus, *J Diabetes Investig*, 2, 158–169.

Pan Y, Li G, Zhong H, et al. (2016), RIG-I inhibits pancreatic β cell proliferation through competitive binding of activated Src, *Scientific Reports*, 6, 28914

Polak M, Cavé H. (2007), Neonatal diabetes mellitus: a disease linked to multiple mechanisms, *Orphanet J Rare Dis*, 2, 12-23.

Vaxillaire M, DP, Bonnefond A, Froguel P. (2009), Breakthroughs in monogenic diabetes genetics: from pediatric forms to young adulthood diabetes, *Pediatr Endocrinol Rev*, 6, 405–417.

Verbsky JW, Chatila TA. (2013), Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked (IPEX) and IPEX-related disorders: an evolving web of heritable autoimmune diseases, *Curr Opin Pediatr*, 25, 708-714.

Wienke J, Janssen Wet al. (2015), A novel human STAT3 mutation presents with autoimmunity involving Th17 hyperactivation, *Oncotarget*, 6, 20037-20042.

7. Eskerrak/aipamenak

Lan hau nazioarteko artikulu batetik (Velayos T. et al., 2017) eratorria da. Ikerketa hau ISCIII (PI14/01104) ikerketa proiektuaren bitartez finantzatu zen.

Egileek CIC bioGUNEko Genoma analisirako plataformak emandako laguntza teknikoa eta gizatiarra eskertzen dute.