

4-2-3 小児思春期発育研究部（成長障害研究室、小児代謝病態研究室）

1. 概要

小児思春期発育研究部（および成長障害研究室）の目的は、胎児期から生殖年齢期までの内分泌疾患（特に成長障害、性分化異常、生殖機能障害）、先天奇形症候群、インプリンティング疾患を主たる対象として、単一遺伝子疾患と多因子疾患の両者の観点から分子遺伝学的解析および機能解析を行い、その成果を医療や社会に還元することである。そして、単一遺伝子疾患の観点では、新規原因遺伝子の発見、疾患成立機序の解明、遺伝子型-表現型解析による臨床像の解明、迅速かつ正確な診断法の確立、原因療法の適正化、新規原因療法の開発を目指す。多因子疾患の観点では、疾患感受性遺伝子多型、環境反応性遺伝子多型、薬剤応答性遺伝子多型の同定と、それに基づく疾患発症機序の解明、社会環境の評価（内分泌攪乱物質など）、対症療法の適正化と重篤な副作用の回避を目指す。代謝研究部の目的は、動物細胞の増殖にとって不可欠な水溶性ビタミンであるビオチンおよびリポ酸が、ヒトの各種難病の病態とどのように関連するかについて基礎的解析を行い、難病（特に肝臓癌）の治療に寄与することである。

2. 研究活動

2.1 成長障害

2.1.1 擬常染色体領域の成長遺伝子 SHOX (short stature homeobox containing gene) 遺伝子コード領域に異常がなく、SHOX 異常症に特有の骨形成障害を有する患者 5 例の解析から、SHOX 発現調節領域を SHOX 遺伝子から 3' 方向へ約 150 kb 離れた 39 kb 領域に局限し (Am J Med Genet 137:72, 2005)、異種動物間ホモロジーサーチとルシフェラーゼを用いた機能解析により、SHOX 発現調節領域を約 800 bp 領域に局限した (Am J Hum Genet, in press)。これは、ヒトにおける発現調節異常症の存在を示すものである。また、SHOX 異常症患者の詳細な身体計測学的特徴を明らかにした (Endocr J 51:197, 2004)。さらに、SHOX cDNA を合成し、遺伝子導入マウス解析による新規成長障害治療法の研究を開始した。

2.1.2 椎骨の早期融合を伴う Klippel-Feil 症候群と相互転座 t(5;8)(q35;p21) を呈する 3 家系 5 例を報告した (Am J Med Genet, in press)。その後、転座切断点を決定し、新規遺伝子クローニングを行っている。

2.1.3 本邦の遺伝性成長ホルモン欠損症 II 型の患者で GH-1 遺伝子を解析し、R183H 変異および K41X 変異を同定した。GH-1 minigene を作成し培養細胞で発現し、K41X 変異がスプライシング異常をきたして、優性遺伝形式の成長ホルモン欠損症を引き起こすことを明らかにした。さらに、血清成長ホルモン測定に用いられる免疫活性を喪失している新規ミスセンス変異を同定し、生理的には成長ホルモン欠損ではなくとも、生化学的には完全な成長ホルモン欠損症と診断される症例が存在することを見いだした。

2.1.4 子宮内発育不全症患者約 50 例においてインプリンティング解析を行い、2 例において第 7 染色体母親性ダイソミーを、8 例において第 11 染色体の低メチル化を見いだされた (manuscript in preparation)。これは、本邦初の成果である。

2.2 性分化異常症

2.2.1 X 染色体染色体長腕遠位部から新規性分化異常症責任遺伝子を同定し、MHX と命名した (manuscript in preparation)。これは、約 100 例の患者において候補遺伝子の変異解析を行った結果、3 家系 4 例の尿道下裂患者においてナンセンス変異が同定されたことに基づく。さらにマウス相同遺伝子が、雄では胎児期に精巣セルトリ細胞とライディッヒ細胞特異的発現を示し、生後では発現しないこと（したがって、早期治療により妊孕性確保の可能性があること）、また、雌では成獣期の卵巣特異的に発現すること（したがって、卵巣機能不全に関与しうること）を見いだした。

その後、Notch シグナル伝達に關与する Mastermind like 2 との相同性を見だし、機能解析により、MHX が Notch 依存性および非依存性に co-activator として作用することを見いだした。

2.2.2 SF-1/Ad4BP 遺伝子変異が、副腎病変のない XY 女性を生じうることを世界で初めて見いだした (J Clin Endocrinol Metab 89:5930, 2004)。その後、さらに 2 例の患者において変異を同定している。

2.2.3 9p に想定される性分化遺伝子の欠失が精巣機能障害のみならず、卵巣機能障害を生じることを見いだした (Mol Genet Metab 2004;82:173-179)。

2.2.4 男女共通の外陰部異常症と骨系統疾患を生じる POR 遺伝子異常症を 25 例の患者において同定し、その病態がペルオキシゾーム内の P450 酵素群に關与する電子伝達系異常で説明されることを報告した (J Clin Endocrinol Metab 90:414, 2005)。また、妊娠中のコレステロール摂取が骨形成障害を緩和しうること、マスキングにおいて検出された患者においても本疾患が存在すること、少量のステロイド補充が臨床的に有用であることを見いだした (Pediatr Res, in press)。さらに、女兒の外陰部異常症を招く機序として、胎児期特異的な男性ホルモン産生経路が存在することを世界で初めて見いだした。

2.2.5 低ゴナドトロピン性性腺機能不全と嗅覚障害を伴う Kallmann 症候群 45 例において、X 染色体劣性型の KAL1 遺伝子変異が約 30%、常染色体優性型の KAL2 遺伝子変異が約 20% を占めることを見いだした (J Clin Endocrinol Metab 51:187, 2004)。また、KAL1 遺伝子変異が腎構造異常を高率に合併すること、KAL2 遺伝子変異が骨の異常をしばしば伴うことを明らかとした。さらに、Kallmann 症候群におけるゴナドトロピン療法が妊孕性獲得に奏功するものの、変異遺伝子および疾患表現型を次世代に伝達するリスクがあることを明らかとした (Hum Reprod 20:2173, 2005)。

2.2.6 眼球無形成と低ゴナドトロピン性性腺機能障害を有する患者において、SOX2 遺伝子変異を世界で初めて同定し、機能解析により、この変異が機能喪失型であることを確認した。

2.2.7 内分泌攪乱物質のエストロゲン様作用を介在するとされているエストロゲン受容体のハプロタイプ解析を 15 個の SNPs を対象として行い、リガンド依存性転写活性化ドメインに約 50 kb の連鎖不平衡領域が存在し、このハプロタイプ頻度が停留精巣とマイクロペニスの疾患発症に關することを見いだした (J Clin Endocrinol Metab 90:4716, 2005)。これは内分泌攪乱物質に対する遺伝的感受性の存在を示すデータである。さらに、ダイオキシン受容体抑制因子遺伝子の P185A 多型がマイクロペニス発症に關すること (Endocr J 52:83, 2005)、SF1/AD4BP の G146A 多型がマイクロペニスおよび停留精巣発症に關すること (Endocr J 52:445, 2005; Fertil Steril, in press) を見いだした。

2.2.8 停留精巣患者 68 例、コントロール 60 例において精巣導管形成に必須の INSL3 遺伝子の変異および多型解析を行い、変異は同定されなかったが、A59T 多型がマイクロペニスと停留精巣発症感受性に關与することを見いだした。

2.2.9 男性ホルモン効果に關連する 5 α 還元酵素とアンドロゲン受容体遺伝子に変異のないマイクロペニス患者 53 例における男性ホルモン治療効果の有用性と遺伝子多型の影響を明らかとした (J Urol 179:319-324, 2004)。

2.3 副腎皮質刺激ホルモン-副腎系

2.3.1 副腎不全と性の逆転を呈した 46,XY 女性で新規のミスセンス変異接を同定した。変異酵素蛋白の機能解析を行い、変異酵素蛋白では活性が野生型酵素蛋白の約 10% に低下していることを明らかにした。常染色体劣性遺伝形式のコレステロール側鎖切断酵素欠損症は世界で 3 家系目であった。これまでの報告例とあわせて、コレステロール側鎖切断酵素欠損症の臨床像を明らかにした。

2.3.2 Allgrove 症候群の本邦の患者で、AAAS 遺伝子解析を行い、新規の変異を同定した (Endocr J 51: 473, 2004)。慢性粘膜皮膚カンジダ症、副甲状腺機能低下症、副腎皮質機能低下症を主要 3 徴候とする APECED (autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis ectodermal dystrophy) の本邦患者で、AIRE 遺伝子の変異を同定した (J Pediatr Endocrinol Metab 17: 917, 2004)。

2.4 生殖機能障害

2.4.1 無精子症患者において、第9染色体の約250 kb欠失を同定し、ポジショナルクローニングを開始した。

2.4.2 早期卵巣機能不全症患者においてNoggin変異を同定した(Fertil Steril 81:1137-1139, 2004)。

2.4.3 ダイオキシン受容体抑制因子遺伝子のP185A多型が無精子症発症に相関することを見いだした(Fertil Steril 82:1067-1071, 2004)。

2.4.4 日本人においてのみ早期卵巣機能不全症を伴うLHベータ遺伝子多型を同定した。また、X染色体の不活化解析で完全なノンランダム不活化パターンを示す患者が存在することを見いだした。

2.5 先天奇形症候群

2.5.1 ヌーナン症候群患者50例以上の解析から、PTPN11遺伝子変異が約40%を占めること、変異陽性例と陰性例の症状が異なること、変異陽性患者の若年性白血病が通常自然寛解することを見だし、治療法選択や予後判定における遺伝子診断の重要性を報告した(J Clin Endocrinol Metab 89:3359, 2004; Am J Med Genet 128A:63, 2004; Am J Hematol 79:171, 2005)。また、PTPN11変異患者では、固形腫瘍の発症率が高く、白血病同様に予後良好である可能性を見いだした。さらにLEOPARD症候群においても変異を同定した(Am J Med Genet 130A:432, 2004)。

2.5.2 特徴的な症状を伴う疾患単位である父親性ダイソミー14患者3例を同定し、部分ダイソミー症例から、責任領域を14q23.3より遠位部にマップし、乳児期以降の自然予後が良好であることを明らかとした(Am J Med Genet 138A:127, 2004)。さらに、父親性ダイソミー14の表現型を有する同胞例において、世界で初めてインプリンティング調節領域の微小欠失を同定し、この欠失が母親から由来する場合にのみ症状を呈することを確認した。その後、極微小欠失が推測される患者および同様の症状を伴う環状14染色体を有する患者を解析中である。

2.6 ビタミン及びその代謝酵素の研究

2.6.1 肝臓癌14名の原発性(+HCV12名、+HBV2名)肝癌患者において、癌部と非癌部の比較から、癌部で有意にKi値が大きい(Wilcoxon検定にて危険率0.1%)ことを発見した。D-,L-アスパラギン酸の光学分割をPTC-誘導体化後、アビジンを固定化したHPLC親和クロマトグラフィーにて達成した(UV269nmにて検出)。D-アスパラギン酸は、肝臓の培養細胞にて見つかるため、細胞の不死化と関連すると想定される。

3. 研修

3.1 大学院生研修

3.1.1. 慶應大学医学部小児科、慶應大学医学部産婦人科、聖マリアンナ医大小児科

3.2 実験技師研修

4. 社会的活動

4.1. 緒方 勤：東京医科歯科大学大学院生命情報科学教育部発生・生殖学分野客員教授；東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学講座非常勤講師；慶應義塾大学医学部小児科学非常勤講師；東海大学医学部小児科学非常勤講師；東京歯科大学市川総合病院小児科客員教授

4.2. 勝又規行：帝京大学医学部非常勤講師