

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461546

研究課題名(和文) 成長障害の病態解明 新たなアプローチによるGH-IGFs系シグナル異常の解明

研究課題名(英文) The elucidation of growth failure due to GH/IGF signaling abnormality

研究代表者

鞆嶋 有紀 (Kawashima, Yuki)

鳥取大学・医学部・講師

研究者番号：20403412

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、19サンプルについて同意取得後、本学生命機能研究支援センターにて、イリミナ社のTruSight one シーケンスパネルを用いて、GH-IGF系経路関連蛋白遺伝子のみについて、次世代シーケンサーによる解析を行った。その結果、1症例に、IGFALS、IRS1のヘテロ変異が、同定され、遺伝子組み込みによる機能解析の結果、本遺伝子異常による成長障害であることが判明した(現在論文投稿中)。また、1例にIGFBP5のヘテロの遺伝子異常、IGF2の遺伝子異常が同定され、現在機能解析中である。

研究成果の概要(英文)：Targeted resequencing was carried out 19 samples using TruSight One sequencing panels, which included 4,813 genes associated with known clinical phenotypes, as previously described. We analyzed genes (including GH, GHR, STAT 5, STAT 3, IGF1R, IGF1, IGF2, IGFBP3, IGFALS, IRS1, and IRS2) associated with GH-IGF signals on the panel. We identified both heterozygous IGFALS mutation and IRS1 mutation in 1 case. Functional analysis revealed that both IRS1 mutation and IGFALS mutation result in growth failure. We are applying to publish the journal. Furthermore, heterozygous IGFBP5 mutation, and IGF 2 mutation were identified in each 1 case. We are under functional analysis for those.

研究分野：小児内分泌学

キーワード：成長障害

1. 研究開始当初の背景

成長ホルモン (Growth hormone: GH) と GH により分泌が誘導されるインスリン様成長因子 [insulin-like growth factor (IGF)] は人体の成長に関わっている最も重要な成長因子である。しかし、GH-IGF シグナルには多くの蛋白が複雑に関わっており、ヒトの成長障害との関連については GH、IGF 自身の分泌障害以外は未だ明らかにされていない。

2. 研究の目的

私達は原因不明の低身長患者を対象に、次世代シーケンサーを用い、GH-IGF 系シグナル関連蛋白のエクソーム解析を行うことで、これまで明らかにされていなかった成長障害と GH-IGF 系、およびシグナル関連蛋白との関連を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 以下の対象の血液を採取し、DNA を抽出する。GH 分泌低下の見られない原因不明の成長障害患者、これまで IGF1R 遺伝子異常が疑われ、遺伝子解析を行い異常が認められなかった成長患者

(2) 抽出した DNA サンプルを用い、イルミナ社 MiSeq を用い、GH-IGF 系経路関連蛋白遺伝子 (*GHR*, *STAT3*, *STAT5*, *IGF-1*, *IGF-2*, *IGFALS*, *IGFBP3*, *IGFBP5*, *IGF1R*, *IRS1*, *IRS2*,) のターゲットリシーケンスを行う。

(3) 見出された変異を機能予測ソフト、データベースを用いて SNP か、希少変異かの検討を行う。

(4) 希少変異であった場合は、それぞれの遺伝子を細胞導入し、機能解析を行う。

4. 研究成果

本研究では、19 サンプルについて同意取得後、本学生命機能研究支援センターにて、

イルミナ社の Trusight one シーケンスパネルを用いて、GH-IGF 系経路関連蛋白遺伝子のみについて、次世代シーケンサーによる解析を行った。

その結果、1 症例に、*IGFALS* (p.Arg229His), *IRS1* (p.Ser 685_686del) のヘテロ変異が、同定された。

これらの変異遺伝子プラスミドを作成し、HEK293 細胞を用いて、発現実験を行った。変異 *IGFALS* では、細胞および、細胞上清中の発現が低下していた。また、変異 *IRS1* でも発現が低下しており、さらに、*IGF1* の持続刺激での *IRS1* のリン酸化の低下、*IRS1* の蛋白量の発現が低下がみられ、変異 *IRS1* 遺伝子では、degradation の亢進により、*IRS1* 蛋白の発現が低下していることが判明した。

なお、変異が同定された症例では濃厚な家族歴があり、家族の遺伝子解析をおこなったところ、同様の *IRS1* 遺伝子変異が同定され、*IRS1* 遺伝子変異が新たに成長障害の原因になることを世界で初めて明らかにした。現在論文投稿中である。また、1 例に *IGFBP5* (p.Gly44Ser) のヘテロの遺伝子異常が同定され、現在機能解析中である。さらに 1 例に、*IGF2* (p.Cys45Ser) の遺伝子異常が同定され、現在機能解析中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 1 件)

第 50 回日本小児内分泌学会学術集会
2016 11.16-17 東京国際フォーラム（東
京都千代田区）

発表演題：IGFALS 遺伝子及び IRS1 遺伝
子異常が同定された SGA 性低身長の一
家系；新たな成長障害の解明

〔図書〕（計 1 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者
鳥取大学医学部周産期・小児医学・講師
鞆嶋 有紀 (Yuki
Kawashima)

研究者番号：20403412

(2)研究分担者
なし ()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

なし
研究者番号：

(4)研究協力者
鳥取大学医学部周産期・小児医学・助教
藤本 正伸 (Fujimoto Masanobu)

鳥取大学医学部周産期・小児医学・技術補
佐員

長谷川 亜紀子 (Hasegawa Akiko)

鳥取大学医学部保健学科母性・小児家族看
護学講座・教授

花木 啓一 (Hanaki Keiichi)

研究者番号：20238041

鳥取大学医学部周産期・小児医学・教授
神崎 晋 (Susumu Kanzaki)

研究者番号：90224873

鳥取大学遺伝子探索分野・教授

難波 栄二 (Nanba Eiji)

研究者番号：40237631

鳥取大学遺伝子探索分野・助教

足立 香織 (Adachi Kaori)

研究者番号 : 50609237

東京大学農学生命科学研究科・准教授

高橋 伸一郎 (Takahashi

Shin-ichiro)

研究者番号 : 00197146