

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間： 2007～2008
 課題番号： 19790248
 研究課題名 (和文)
 性決定遺伝子 (INSL3、GREAT、SF-1) の停留精巣に対する影響に迫る研究
 研究課題名 (英文)
 Mutation and polymorphism analyses of INSL3, LGR8/GREAT and SF-1 in patients with cryptorchidism
 研究代表者 和田 友香 (WADA YUKA)
 国立成育医療センター (研究所) ・小児思春期発育研究部 ・共同研究員
 研究者番号： 80399485

研究成果の概要：

INSL3 の多型である Ala24Ala (72G>A) と *SF-1* (Steroidogenic factor-1) の多型である Gly146Ala は停留精巣に劣性効果をもたらしていることが判明した。

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	0	1,800,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	300,000	3,100,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人類遺伝学

キーワード：分子遺伝学, 停留精巣, 性分化異常症 (DSD)

1. 研究開始当初の背景

我々は2006年度に日本人停留精巣患者62人において *INSL3* (Insulin like 3) およびそのレセプターである *LGR8/GREAT* (Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 8 / G protein-coupled receptor affecting testes decent) の Ala24Ala (72G>A) は停留精巣患者において多く認められることが分かった。ま

た *SF-1* (Steroidogenic factor-1) についても Gly146Ala が停留精巣患者において多く認められることが分かった。しかし対象患者が62人と少数でありこのデータをさらに裏付けるにはさらなる患者の集積と解析が必要であった。

2. 研究の目的

本研究は性決定に関与する遺伝子

(*INSL3*, *GREAT*, *SF-1*)の停留精巣発症に対する影響を解明すること。

3. 研究の方法

停留精巣患者において抽出したゲノムDNAを用いて、*INSL3*についてはそれぞれのコーディングエクソンに対しプライマーを設計しpolymerase chain reaction (PCR)反応を行いCEQ8000 autosequencer (Beckman Coulter, Fullerton, CA)を用いて直接シーケンス法で解析した。*GREAT*と*SF-1*についてはコーディングエクソンがそれぞれ18個、6個と多いため直接シーケンス法よりもコストパフォーマンスの良いWAVE (Transgenomic, Omaha, NE)を用いた Denaturing high-performance liquid chromatography (DHPLC法)を行い、異常パターンを示すバリエーションに対しては直接シーケンス法あるいは制限酵素切断法を行った。型についてはそのアレル頻度、ジェノタイプ頻度を χ^2 testにて解析する。その際、得られたデータがHardy-Weinberg平衡を満たしているかを検討するために Hardy-Weinberg equilibrium(<http://en.wikipedia.org/wiki/Hardy-Weinberg>)を用いた。

4. 研究成果

変異は同定されなかったが *INSL3* および *LGR8/GREAT* の多型が6つ同定された。*INSL3* の Ala24Ala (72G>A) は停留精巣患者において多く認められることが判明した。さらに統計解析を行ったところ Ala は停留精巣に対し劣性効果をもたらしていることが判明した。また *SF-1* (Steroidogenic factor-1) については既知の多型である Gly146Ala について同様に停留精巣患者において検討した。その結果、この多型も停留精巣に劣性効果をもたらし

ていることが判明した。変異が同定されなかったことについては妊孕性低下に関係する遺伝子変異であるがゆえに自然淘汰された可能性が考えられる。しかし妊孕性低下に関係する遺伝子であっても、我々が過去に報告した *INSL3* の Ala24Ala や *SF-1* の Gly146Ala のような劣性効果を持つ感受性因子では自然淘汰される可能性が低いと考えられた。

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3件)

①

Ogata T, Fukami M, Wada Y, MAMLD1 (CXorf6) is a new gene for Hypospadias.、Clin Pediatr Endocrinol、17(4)、87-93、2008、査読有

②

Wada Y, Nishimura G, Nagai T, Sawai H, Yoshikata M, Miyagawa S, Hanita T, Sato S, Hasegawa T, Ishikawa S, Ogata T.、Mutation analysis of SOX9 and single copy number variant analysis of the upstream region in eight patients with Campomelic dysplasia or Acampomelic dysplasia.、Am J Med Genet.、2008、In press、査読有

③

Wada Y, Fukami M, Ogata T.、MAMLD 1 (CXorf6): A new gene for hypospadias、生殖内分泌学会雑誌、13、37-43、2008、査読有

[学会発表] (計4件)

①

和田友香、深見真紀、宮林加奈子、西野一三、長谷川奉延、山田源、諸橋憲一郎、緒方勤：Cxorf6 (MAMALD1) is a causative gene for

hypospadias. アンドロロジー学会 (2008年7月、京都)

②

和田友香、山澤一樹、鏡雅代、吉形真由美、埴田卓志、宮河真一郎 : Campomelic dysplasia と Acampomelic campomelic dysplasia患者14例におけるSOX9変異の有無と臨床像の関連性. 日本周産期学会 (2008年7月14日、横浜)

③

T, Fukami M, Wada Y, Yoshida R, Watanabe M. Haplotype analysis of the estrogen receptor a gene in male genital and reproductive abnormalities. In: The Royan International Twin Congress (The 9th Congress on Reproductive Biomedicine and The 4th Congress on Stem Cell Biology and Technology). August 27-29, Tehran, 2008.

④

和田友香、澤井英明、吉形真由美、宮河真一郎、埴田卓志、佐藤清二、長谷川奉延、永井敏郎、山本俊平、西村玄、緒方勤. :Campomelic dysplasiaとacampomelic campomelic dysplasia 8症例におけるSOX9変異解析とCNV解析. 第53回日本人類遺伝学会, 2008.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和田 友香 (WADA YUKA)

国立成育医療センター (研究所)・小児
思春期発育研究部・共同研究員
研究者番号 : 80399485

(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 :

