

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 23 日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790982

研究課題名 成長における IGF-I 作用の新たな役割：ALS および IGF-I 受容体の機能解析

研究課題名（英文）Role of IGF-1 system in growth - functional analysis of Acid Labile Subunit (ALS) and IGF1R

研究代表者 鞆嶋有紀 (KAWASHIMA YUKI)
鳥取大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：20403412

研究成果の概要（和文）：Acid Labile Subunit (ALS) および IGF-I の受容体である 1 型 IGF-I 受容体 (IGF1R) の遺伝子解析を基盤において、原因不明の低身長児，特に IUGR に伴う低身長児を対象に IGF1R および ALS の遺伝子解析を行った。ALS 遺伝子異常は同定できなかったが、1 例の IUGR 性低身長児に Gln1220X のヘテロの変異を同定した。ストップコドンであるため、遺伝子異常症と考えられるが、現在この変異における機能解析を進めている。この他にも 7 例の遺伝子解析を行ったが遺伝子異常は同定できなかった。

研究成果の概要（英文）：We analysed the nucleotide sequences of the *IGF1R* gene of patient with idiopathic short stature, or SGA short stature, and that of ALS gene of short stature patient with low serum IGF1 level. Although we were not able to identify the mutation of ALS gene on those patients, we identified heterozygous mutation (p.Q1220X) of the *IGF-1R* gene in SGA short stature with high serum IGF-1 levels and poor response to GH treatment. This mutation site in tyrosine kinase domain results in the absence of carboxyl terminal fragment of IGF-1R after the mutation site (p. Q1220X). Since this lacked carboxyl fragment contains the important site for cell proliferation, we concluded this mutation resulted in IGF-1R dysfunction and short stature.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2011 年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：小児内分泌学

1. 研究開始当初の背景

インスリン様成長因子[insulin-like growth factor(IGF)]-I は、人体の大部分の細胞の成長に関わっている最も重要な成長因子であり、特

に骨発育に最も重要である。IGF-I は主に成長ホルモン (Growth hormone: GH) の刺激をうけた肝臓から分泌され、Acid Labile Subunit (ALS) と IGF-I binding protein と 3 量体を形成

することで肝臓から他臓器へ IGF-I を運搬される。IGF-I の作用は、おもにインスリン受容体と類似した構造を有する 1型IGF受容体 を介して発揮される。

<ALS の学術的背景>

ALS ノックアウトマウスは血中に IGF-I を維持できないため、①血中 IGF-I 低値および②出生後成長障害をきたす。

ALS 遺伝子異常を伴う低身長 は、2004 年以降 17 例報告されており、血中 IGF-I の低下と GH 分泌負荷試験で GH 過剰反応または正常反応を呈するが、本邦での報告は未だなく、遺伝子解析の研究報告もない。

IGF-I 低値を示す成長障害のうち、確立されている原因疾患は成長ホルモン分泌不全性低身長と GH 受容体異常のラロン型小人症であるが、IGF-I 低値を示し、GH 分泌負荷試験で GH が正常分泌反応であり、特発性低身長症と診断されている患者の中に ALS 遺伝子異常に伴う低身長が含まれている可能性がある。

<1型 IGF 受容体の学術的背景>

1 型 IGF 受容体ノックアウトマウスは①胎内発育遅延(IUGR)および②出生直後より成長障害をきたす

1型 IGF 受容体と類似した構造を有するインスリン受容体では多くの遺伝子変異 が報告されている。

従って、IUGR を伴う低身長児に 1型 IGF-I 受容体遺伝子異常 を伴う例が含まれる可能性があり、実際に、近年私達の報告を含めた 6 家系が報告されている。

私達は日本で最初の、世界で 3 家系目の 1型 IGF 受容体遺伝子異常症に起因する IUGR 性低身長 を報告し (Kawashima Y. et al J Clin Endocrinol.Metab 90:4679,2005)。

2008 年より IUGR 性低身長に対する GH 治療 が保険適応となったが、GH 投与に伴う血中 IGF-I の上昇と身長増加は必ずしも一致してい

ない。これに IGF 受容体の機能異常が関与している可能性がある。

2. 研究の目的

胎内および出生後の成長に極めて重要な インスリン様成長因子[insulin-like growth factor(IGF)]-I を血中に保持し、運搬するために必要な結合蛋白である Acid Labile Subunit (ALS) および IGF-I の受容体である 1型 IGF-I 受容体の遺伝子解析 を基盤において、1)原因不明の特発性低身長および胎内発育不全(性低身長症)の病因を明らかにし、2)見出された 1型 IGF 受容体遺伝子異常 および ALS 遺伝子異常 から 1 型 IGF-I 受容体と ALS の機能を明らかにする。また 3)明らかになった 1型 IGF 受容体遺伝子異常 または ALS 遺伝子異常 の病態から、これらの遺伝子異常が原因となった 成長障害の治療法について検討する。

3. 研究の方法

1. 臨床対象での検討

1)以下の対象の血液を採取し、DNA を抽出して Direct Sequence 法にて 1 型 IGF-I 受容体遺伝子と ALS 遺伝子の解析をおこなう。

*1 型 IGF-I 受容体遺伝子解析の対象:原因不明の IUGR 性低身長児で、特に IGF-I の低値を認めない症例

*ALS 遺伝子解析の対象:IGF-I 低値を示しながらも GH 分泌低下のない低身長児

2)ALS 遺伝子異常患者の血清を用い、ウェスタンブロット法で ALS の血清中の発現について検討する。

3)GH 投与をうけた 1 型 IGF-I 受容体遺伝子異常患者あるいは ALS 遺伝子異常患者の GH の治療効果について血中 IGF-I 濃度および身長増加率を検討し、治療効果について明らかにする。

2. In vitro での検討

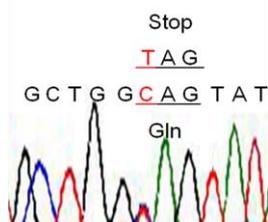
1)変異 1 型 IGF-I 受容体 (IGF-IR) 遺伝子異常

変異 IGF-IR 遺伝子を **IGF-IR KO 3T3L1-like 細胞(R-細胞)**に導入し、安定に変異 IGF-IR を発現する株細胞を作成し、IGF-I 結合能、DNA 合成能、IGF-IR β 鎖および IRS2 の自己リン酸化などを行い、変異 IGF-IR 遺伝子の機能異常を解析する。

4. 研究成果

Acid Labile Subunit (ALS) および IGF-I の受容体である 1 型 IGF-I 受容体 (IGF1R) の遺伝子解析を基盤において、原因不明の低身長児、特に IUGR に伴う低身長児を対象に IGF1R の遺伝子解析を、また IGF-I 低値を示しながらも GH 分泌低下のない低身長児に ALS の遺伝子解析を行い、ALS および IGF1R の異常に起因する成長障害を明らかにすることを目的とし、研究を遂行した。ALS 遺伝子異常については同定できなかったが、1 例の IUGR 性低身長児に Gln1220X のヘテロの変異を同定した (図 1)。ストップコドンであるため、遺伝子異常症と考えられるが、現在この変異における機能解析を進めている (現在未だ終了していない)。またこの症例は成長ホルモンの治療を受けていたが、治療に対し、抵抗性を示しており、今回の発見で喚起できるものがあると考えられる。この他にも 7 例の遺伝子解析を行ったが遺伝子異常は同定できなかった。

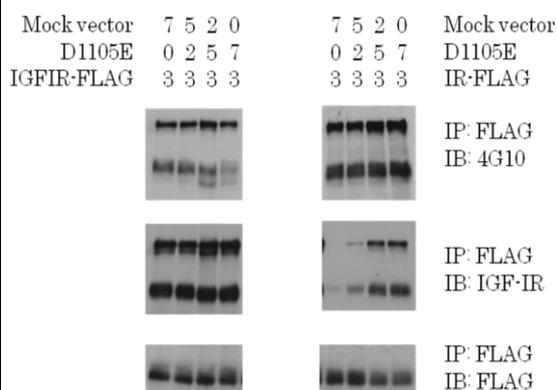
図 1 : 症例に認められた変異



すでに IUGR 性低身長児に同定していた新規の *IGF1R* 遺伝子異常のヘテロのミスセンス変異 (D1105 E) の機能解析では、変異 IGF-IR では IGF-I 受容体の自己リン酸化が障害され、機能低下を起こしていること、さらに、この変異 IGF-IR と正常 IGF-IR 遺伝子を同時に R-細胞に発現させ、IGF-I 刺激を行い、ドミナントネガティブ作用があることが前年度の成果にて判明したが、この家系には耐糖能異常があり、また IGF1R は生体内では insulin receptor (IR) と 4 量体を形成することが知られているため、変異 IGF1R の insulin receptor へのドミナントネガティブ作用もある可能性があり、これについて検討した。

CHO 細胞に正常の IGF1R または正常の IR 遺伝子を発現させ、これらの細胞に変異 IGF1R を容量依存的に導入し、IGF-1 または insulin 刺激を行ったところ、IGF1R に対してはドミナントネガティブが明らかであったが、IR に対してはドミナントネガティブ作用がみられず、この変異は、IGF1R のみにドミナントネガティブ作用があることが判明した (図 2)。従って、この変異をもっている患者には、変異 IGF1R による IR の機能低下はないと考えられる。また、患者は現在 SGA 性低身長として成長ホルモン (GH) 治療を行っており、GH には耐糖能異常の副作用が知られているため、本結果はその意味でも意義部会と思われる。また、潜在的に GH 治療を受けている SGA 性低身長の中には、IGF1R 遺伝子異常症が存在する可能性があるため、この結果はその意味でも大変重要な結果と思われる。

図 2 正常 IGF1R または IR 導入細胞への D1105EIGF1R の導入、IGF1 刺激もしくはインスリン刺激



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. Kawashima Y, Higaki K, Fukushima T, et al . Novel missense mutation in the IGF-I receptor L2 domain results in intrauterine and postnatal growth retardation. Clin Endocrinol (Oxf).2012 in press (査読有)
DOI: 10.1111/j.1365-2265.2012.04357
2. Kawashima Y, Takahashi S, Kanzaki S. Familial short stature with IGF-I receptor gene anomaly [Review]. Endocr J.59 巻 2012, 179-185 (査読有)

3. 鞆嶋有紀 SGA で出生した低身長児からみ
つかる遺伝子異常—最近までの IGF1 受容
体遺伝子異常症の進歩—小児科臨床 65
巻 2012、977—983 (査読無)

[学会発表] (計 2 件)

1. 鞆嶋有紀 IGF-I 受容体遺伝子に新規変
異を認めた SGA 性低身長 の 1 例 第 85
回日本内分泌学会学術総会 2012.4.19
名古屋国際会議場
2. 鞆嶋有紀 IGF-I 受容体遺伝子異常症の
成長パターン—成長ホルモン投与例・未
投与例の検討 2011.10.8 大宮ソニック
シティ (埼玉)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鞆嶋有紀 (KAWASHIMA YUKI)
鳥取大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：20403412