

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791043

研究課題名(和文) 心房内臓錯位症候群の網羅的遺伝性解析～先天性心疾患の遺伝的成因の解明

研究課題名(英文) Genome-wide association studies for heterotaxy syndrome

研究代表者

犬塚 亮 (Inuzuka, Ryo)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00597560

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では心房内臓錯位症候群の疾患関連遺伝子の検索のため、右側相同心を有する患者とその両親、6家系18検体のエクソーム解析を行い、154の候補遺伝子を同定した。これのうち複数の家系において変異を認めた11遺伝子、胚の発生に関わることが知られている4遺伝子、線毛運動に関わる可能性のある5遺伝子を認めた。今後、これらの遺伝子について機能解析等を行っていく予定である。特に左右軸の決定において重要な役割を担う事が知られているNodal-Lefty-Pitx2 moduleと相互作用を有する遺伝子の変異も見つかっており、この遺伝子については、Validation cohortにおける変異の検索を行う。

研究成果の概要(英文)：To find genes related to heterotaxy syndrome, we performed exome sequence for 6 parent-offspring trios with sporadic heterotaxy syndrome and identified 154 candidate genes for heterotaxy syndrome. These genes included 11 genes in which multiple probands have unreported non-synonymous SNVs, 4 genes that are known to relate to embryogenesis and 5 genes related to ciliary dyskinesia. We will further perform functional analysis for these genes after narrowing down the candidate genes by analysing more probands. We also found a mutation in a gene that interacts with Nodal-Lefty-Pitx2 module, which are known to play an important role in the determination of the left-right axis in the embryogenesis. We will also search for mutations in this gene among those in the validation cohort.

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：心房内臓錯位症候群 網羅的遺伝子解析

1. 研究開始当初の背景

従来、先天性心疾患は遺伝的因子と環境的因子の相互作用により生じると漠然と理解されてきていたが、分子遺伝学および疫学の発達により、遺伝的因子についての詳細なメカニズムが明らかになりつつある。

心房内臓錯位症候群は、臓器の左右軸の異常により生じ、心奇形を伴うことが多く先天性心疾患の約3%を占める。左右軸の決定は心臓発生の重要な初期過程であり、その異常は単心室などの重症心奇形につながり、外科技術が進歩した今日でも、予後不良である。まれに家族内集積の報告があるものの、ほとんどの症例が孤発例であり遺伝の関与する例はまれと考えられていたが、これまでに、心房内臓錯位症候群のモデル動物において、左右軸の決定に関わる必須遺伝子が80以上見つかり、遺伝子の関与が明らかになってきた。また、昨年デンマークにおける大規模な疫学調査の結果、心房内臓錯位症候群が近親にいる場合、先天性心疾患発症のリスクは通常の80倍と高くなることが判明し、実際に人においても遺伝的要因が強く関与していることが示唆され、詳細な発症メカニズムの解明が待たれている。現在までに、ZIC3, CFC1, ACVR2B, LEFTY2, NKX2.5, CRELD1, FOXH1, CRIPTO, GDF1, NODAL などのいくつかの遺伝子の変異が心房内臓錯位症候群の患者において報告されているが、その他の遺伝子の関与の有無などについては不明である。

近年、ゲノムコピー数の変化を網羅的に解析することが可能な高密度SNP アレイが開発され、がんや先天異常疾患における標的遺伝子の同定に効果をあげている。我々の施設

ではがんゲノミクスプロジェクト小川准教授との共同研究により、高密度SNP アレイのデータ解析のための、強力なデータ補正アルゴリズムを実装した解析システム (CNAG/AsCNAR)を開発し、全ゲノムについて極めて高い解像度で、ゲノムコピー数の変化をスクリーニングすることを可能とした。これまでに神経芽腫、リンパ腫および骨髄異型症候群における網羅的ゲノム解析を行い、ALK, A20 およびC-CBLがそれぞれの標的分子であることをつきとめている。また最近、数百万の塩基配列を同時並行的に決定することができる次世代型シーケンサーが開発され全ゲノム領域のハイスループットな解析が可能となった。

2. 研究の目的

本研究の目標は、心房内臓錯位症候群における未知の関連遺伝子を発見すること、また既知の遺伝子変異も含めその頻度を明らかにする事である。また、ゲノム変異の当該領域に存在する有用な遺伝子(群)については、発現ベクターを用いた遺伝子導入実験による機能解析を行い、遺伝子の性状を解析し、発症分子機構の解明や心臓発生のメカニズムの解明を試みる。

3. 研究の方法

本研究では右側相同心を有する患者とその両親、6家系18検体の、エクソーム解析を行った。

4. 研究成果

エクソーム解析で抽出された Variant から dbSNP に登録されている多型や synonymous SNV を除くなどの処理を行い

1家系当たり平均764のvariantを選定した。これらの中からDe novo mutationを想定した解析により108遺伝子、Compound heterozygosityを想定した解析により46遺伝子、合計154の候補遺伝子を同定した。今後、これらのうち複数の家系において変異を認めた11遺伝子、胚の発生に関わることが知られている4遺伝子、線毛運動に関わる可能性のある5遺伝子について機能解析および症例増加による候補遺伝子の絞込みを行っていく予定である。特に左右軸の決定において重要な役割を担う事が知られているNodal-Lefty-Pitx2 moduleと相互作用を有する遺伝子の変異も見つかっており、この遺伝子については、Validation cohortにおける変異の検索を行う。

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2件)

Inuzuka R, Seki M, Sugimoto M, Saiki H, Masutani S, Senzaki H. Pulmonary arterial wall stiffness and its impact on right ventricular afterload in patients with repaired tetralogy of Fallot, *Ann Thorac Surg*. 2013 Oct;96(4):1435-41

Valente AM, Gauvreau K, Assenza GE, Babu-Narayan SV, Schreier J, Gatzoulis MA, Groenink M, Inuzuka R, Kilner PJ, Koyak Z, Landzberg MJ, Mulder B, Powell AJ, Wald R, Geva T. Contemporary predictors of death and sustained ventricular tachycardia in

patients with repaired tetralogy of Fallot enrolled in the INDICATOR cohort, *Heart*. 2014 Feb;100(3):247-53

[学会発表](計2件)

犬塚 亮, 古谷 喜幸, 八木 寿人, 森島 正恵, 中西 敏雄, 松岡 瑠美子: ウィリアムズ症候群におけるGNGT1の遺伝子解析. 第57回人類遺伝学会, 東京, 2012年10月24日

Ryo Inuzuka, Clara Kurishima, Hideaki Senzaki: Analysis of load, rate, and contractility dependency of the myocardial performance index using a mathematical model: How to use the myocardial performance index in clinical practice? American Heart Association Scientific Session, Dallas, US, Nov 16-20, 2013

[図書](計0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

犬塚 亮 (INUZUKA Ryo)

東京大学医学部小児科 講師

研究者番号：00597560

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：