

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860784

研究課題名(和文) パーソナルゲノミクスに基づくファロー四徴症の遺伝的成因の解明

研究課題名(英文) Discovery of the Molecular Pathogenesis of Tetralogy of Fallot Based on Personal Genomics

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) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では円錐動脈幹異常の孤発例計53例(総動脈幹症3例、ファロー四徴症31例、完全大血管転位症21例)、および兄弟でファロー四徴症を含む先天性心疾患を発症した2家系についてエクソーム解析を施行した。家系1のエクソーム解析では、アラジール症候群に関して既報のJAG1遺伝子変異を認めた。無症状の母にも同様の遺伝子変異を認め同変異の浸透率が低いことが示唆された。家系2の解析では、6つの候補遺伝子が同定され、この内ファロー四徴症との関係が指摘されている22q11.2領域にあるLZTR1という遺伝子に関してゼブラフィッシュを用いた心臓発生に関する機能解析を行っている。

研究成果の概要(英文)：We performed whole exome analyses of 53 isolated cases with conotruncal anolies (including 3 cases with patent tricus arteriosus, 31 with tetralogy of Fallot and 21 cases with transposition of great arteries) and two families with tetralogy of Fallot. Exome analysis of the first family revealed JAG1 mutation which has been reported to be related to Alagille syndrome. Asymptomatic mother of the proband had the same mutation, suggesting the low penetrance of the mutation. Six candidate genes were found from the analysis of the second family. We are now performing functional analysis using zebrafish for the one of the candidate genes, LZTR1, which is located at 22q11.2 lesion known to be related to pathogenesis of tetralogy of Fallot.

研究分野：先天性心疾患

キーワード：円錐動脈幹異常 エクソーム解析 機能解析

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。

ファロー四徴症は先天性心疾患の約 10% を占める頻度の高い疾患である。また、本症をはじめとする Conotruncal defect の遺伝のリスクは通常の約 11 倍(1.3%)であること、また、患者の First degree relative の 3.1% に先天性心疾患が認められたとの報告からも、ファロー四徴症の成因には遺伝的要素が関与していると考えられている。しかし、単一遺伝子座の異常の浸透率は低いことから、複数の遺伝子座による発病モデルが考えられている[2]。ファロー四徴症の 15% に 22q11.2 欠失症候群、7% にダウン症候群を認め、現在までに、NKX2.5、GATA4、TBX1、FOXH1、FOG2 などの転写因子 CFC1、NOTCH1、NOTCH2、GDF1、TDGF1、JAG1 などの Ligand-receptor の Haploinsufficiency が原因となることが知られているが、約 2/3 の患者において原因は不明である[3]。また、これらの遺伝子は、ファロー四徴症以外の先天性心疾患の発生とも関与することがわかっており、発症の詳細な分子機構はいまだ不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、1)ファロー四徴症の患者の網羅的遺伝子解析を行い、ファロー四徴症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

かにすること。また、2)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、遺伝子編集による機能解析を行い、遺伝子の性状を解析し、関連遺伝子群のネットワークを含めた発症分子機構や心臓発生のメカニズムを明らかにすることである。

3. 研究の方法

円錐動脈幹異常の孤発例計 53 例(総動脈幹症 3 例、ファロー四徴症 31 例、完全大血管転位症 21 例)において全エクソーム解析を施行した。また、兄弟でファロー四徴症を含む先天性心疾患を発症した 2 家系について家系のエクソーム解析を施行した。家系の連鎖解析、検出された変異の Pathway analysis などを行い候補遺伝子を同定し、CRISPR/Cas9 を用いたゼブラフィッシュの遺伝子改変ノックアウト変異体の表現型解析を行う。

4. 研究成果

円錐動脈幹異常の孤発例に関しては、現在エクソーム解析の結果を解析中である。兄弟でファロー四徴症と純型肺動脈閉鎖症を発症した家系 1 のエクソーム解析では、アラジール症候群に関して既報の JAG1 遺伝子変異を認めた。無症状の母にも同様の遺伝子変異を認め同変異の浸透率が低いことが示唆された。また、兄弟でファロー四徴症を認めた家系 2 では、常染色体劣性遺伝・Compound heterozygosity を仮定し、それぞれ 3 つの候補遺伝子が同定された。この内ファロー四徴症との関係が指摘されている 22q11.2 領域にある LZTR1 という遺伝子に関して、現在ゼブラフィッシュを用いた心臓発生に関する機能解析を行っている。

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5件)

1: Müller J, Hager A, Diller GP, Derrick G, Buys R, Dubowy KO, Takken T, Orwat S, Inuzuka R, Vanhees L, Gatzoulis M, Giardini A. Peak oxygen uptake, ventilator efficiency and QRS-duration predict event free survival in patients late after surgical repair of tetralogy of Fallot. *Int J Cardiol*. 2015 Oct 1;196:158-64.

2: Inuzuka R, Kurishima C, Kuwata S, Iwamoto Y, Sugimoto M, Saiki H, Ishido H, Masutani S, Senzaki H. Influence of Left Ventricular Stiffness on Hemodynamics in Patients With Untreated Atrial Septal Defects. *Circ J*. 2015;79(8):1823-7.

3: Hayashi T, Hirata Y, Inuzuka R, Hirata Y. Total anomalous pulmonary venous connection with ccTGA and VSD: Can pulmonary artery banding avert pulmonary venous obstruction? *Pediatr Int*. 2015 Aug;57(4):714-6.

4: Diller GP, Kempny A, Inuzuka R, Radke R, Wort SJ, Baumgartner H, Gatzoulis MA, Dimopoulos K. Survival prospects of treatment naïve patients with Eisenmenger: a systematic review of the literature and report of own experience.

Heart. 2014 Sep;100(17):1366-72.

5: Seki M, Kuwata S, Kurishima C, Nakagawa R, Inuzuka R, Sugimoto M, Saiki H, Iwamoto Y, Ishido H, Masutani S, Senzaki H. Mechanism of aortic root dilation and cardiovascular function in tetralogy of Fallot. *Pediatr Int*. 2016 May;58(5):323-30

[学会発表](計3件)

1:三浦 大, 石津 智子, 犬塚 亮, 八尾 厚史, 小野 博, 庄田 守男, 立野 滋, 田中 博之, 田村 雄一, 山岸 敬幸, 福島 直哉, 水野 篤, 丹羽 公一郎:Fallot 四徴症修復手術後の成人の大動脈基部拡大と弾性低下に関する前向きコホート研究計画. 第 17 回日本成人先天性心疾患学会学術集会, 東京, 2015 年 1 月 17 日 ~ 18 日

2:犬塚 亮, 先崎 秀明:Preload recruitable stroke work の single-beat からの予測 (Single-beat Estimation of Preload Recrutable Stroke Work). 第 51 回日本小児循環器学会学術総会, 東京, 2015 年 7 月 16 日 ~ 18 日

3:Yu Nakagama, Ryo Inuzuka, Katsutoshi Nakano, Yu Tanaka, Takahira Kasagami, Takahiro Shindo, Yoichiro Hirata, Nobutaka Shimizu, Akira Oka: Whole exome sequencing of a monozygotic twin pair discordant for congenital heart defects. The 32nd International Society for Heart Research Congress, Nara, 10th December 2015

〔図書〕(計 0 件)

研究者番号：

〔産業財産権〕

(3)連携研究者

出願状況(計0件)

()

名称：

研究者番号：

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 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・医学部附属病院・講師

研究者番号：00597560

(2)研究分担者

()