

令和元年6月19日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09613

研究課題名(和文)先天性中枢性性腺機能低下症に伴う糖・脂質代謝異常症における新規疾患成立機序の解明

研究課題名(英文)Elucidation of novel disease formation mechanism in glycolipid metabolism disorder with congenital hypogonadotropic hypogonadism.

研究代表者

佐藤 直子 (Sato, Naoko)

東京大学・医学部附属病院・登録研究員

研究者番号：10383069

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：中枢性性腺機能低下症(HH)では、FGF-FGFRネットワーク(以下FFN)関連遺伝子群の変異がHHの病因の3割を占めるとされ、近年FFNに属するFGFリガンドの遺伝子変異を持つHHに糖脂質異常を伴うことが報告された。更に我々はFFN以外の遺伝子A変異陽性例に糖尿病合併をみだしている。以上の背景から、我々はHHと糖脂質異常症の新規疾患成立機序を明らかにすることを目的に、HH50例に対し、FFN遺伝子群及び遺伝子Aの変異解析を行い、遺伝子AとFGFリガンドに關与するKLB変異陽性例各1例に、高度肥満と耐糖能異常の合併を見いだした。この結果は両遺伝子が生殖と糖脂質代謝に關与する可能性を示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の研究により、糖・脂質代謝異常症を伴うHHの責任遺伝子が同定されたことにより、視床下部-下垂体-性腺軸において、糖・脂質代謝とGnRH分泌調節機構に關与するメカニズムが解明される糸口となり、糖・脂質代謝異常症およびHHの新規疾患成立機序の発見に繋がると思われる。さらに、社会的な意義として、HHと糖脂質代謝異常に關する遺伝子診断により、適切な時期に糖尿病、脂質異常症、肥満の治療が開始され、代謝疾患の悪化を防ぎ、患者のQOLを向上させることが可能となる。

研究成果の概要(英文)：FGF-FGFR1 genetic network (FFN)'s gene mutations account for 30% of the etiology of hypogonadotropic hypogonadism (HH). Recently, it was reported that HH with FGF ligand of FFN's gene mutations was accompanied by glycolipid metabolism. Additionally, we identified a mutation of gene A in HH patients with diabetes mellitus. Thus, we performed a gene mutation analysis for the purpose of clarifying new disease establishment mechanism of HH and glycolipid metabolism in 50 HH and identified mutations in both gene A and KLB in HH with severe obesity and/or diabetes mellitus. The results suggest that both gene A and KLB play an essential role in glycolipid metabolism with reproduction.

研究分野：生殖内分泌学

キーワード：中枢性性腺機能低下症 糖脂質代謝異常

研究開始当初の背景

- (1) 先天性中枢性性腺機能低下症(HH)は、思春期遅発症、不妊症を示す疾患である。原因として1993年の *KALI* 同定以来、20種類以上もの責任遺伝子が同定されている (Trends Endocrinol Metab 22:249-58, 2011)。その中で FGF-FGFR ネットワーク関連遺伝子群 (以下 FFN) 変異は HH の約 30%に同定され、疾患発症に重要な役割を果たすと考えられている (The Am J Hum Genet 92:725-743, 2013)。
- (2) FGF ファミリーである FGF21 は糖・脂質代謝の調節因子であり、糖尿病マウスへの FGF21 投与による高血糖改善作用から糖尿病治療薬への応用が期待されている。FGF21 は FGFR1 と co-receptor である β -Klotho (KLB がコードする) と複合体を形成し、活性化する (Nat Rev Drug Discov 8:235-53, 2009)。近年、FGF21 は栄養状態に応じて肝 - 神経内分泌軸を介して雌ラットの生殖能を調節すると報告され (Nature Medicine 19:1153-56, 2013)、その機序として FGF21 は視床下部視交差上核に働き、vasopressin-kisspeptin signaling カスケードを抑制し、発情前の LH サージを抑制することが示された。その co-receptor をコードする KLB は FGF21 に抑制的に働く。これを支持する所見として、ヒトの HH 患者において、FGF21 遺伝子 と KLB 遺伝子の変異解析が行われ、KLB 遺伝子の変異が同定された。この *KLB* 変異陽性者全例に糖脂質代謝異常の合併が見いだされている (第 96 回米国内分泌学会 2014)。以上の結果から、FGFR1 と FGF21、FGF21 co-receptor が HH のみならず肥満・糖尿病などの代謝疾患発症に関与し、GnRH 分泌調節機構と糖脂質代謝機構の両者に相互作用する可能性が示されたが、その発症機序はまだ不明な点が多い。
- (3) 申請者(佐藤)らは、2005年に日本人 Kallmann 症候群 (KS) における遺伝子型 - 表現型解析を報告して以来、200例もの HH の責任遺伝子変異解析を行い、その約 4割に変異を同定し、日本の HH の分子遺伝学・臨床研究の先駆者として分子レベルの研究を確立してきた (Fertil Steril.102:1130-1136, 2014、Jpn J Reprod Endocrinol 第 17 号, 2012)。さらに、責任候補遺伝子 A 変異陽性 KS 患者に糖尿病・肥満の合併が高頻度に見られることを初めて見出した (未発表データ)。国外の研究では、HH の大規模集団で網羅的遺伝子解析により多数の責任遺伝子が同定されている (PNAS 107:15140-15144, 2010)。特に FFN 遺伝子群は HH 発症の約 3割に関与し、性成熟の調節機構に重要である (The Am J Hum Genet 92:725-743, 2013)。さらに、先に述べた様に FFN に属する FGFR1 とリガンドの FGF21 が糖・脂質代謝のみならず、生殖機能の調節にも重要な働きをする可能性が見いだされた。一方でわれわれの見出した遺伝子 A の糖尿病発症への関与を示した報告はなく、遺伝子 A と FGFR1、FGF21、KLB との関連性を述べた報告は世界的にも見られていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、申請者が、HH の原因遺伝子である FFN (FGFR1、FGF21、KLB を

含む) 遺伝子群と遺伝子 A 関連遺伝子群が糖尿病・肥満発症に関与する可能性に注目し、HH において、FFN・遺伝子 A のシグナリングカスケードに関与する遺伝子群の変異・臨床解析を行い、新たな HH の原因究明に加え、糖尿病・肥満の新規の疾患成立機序を明らかにし、ゴナドトロピン調節機構との相互作用を解明することである。

3. 研究の方法

- (1) 糖・脂質代謝異常症・肥満を有する HH と有さない HH の両者を対象とする。協力施設と連携し、約 50 例の検体を収集する。
- (2) 対象とする患者群において、性腺機能の評価、糖尿病、脂質代謝異常症・肥満の診断・評価を行い、適切な患者集団を抽出する。
- (3) FFN および遺伝子 A のシグナリングカスケード関連遺伝子群を変異解析の対象とする。
- (4) 遺伝子診断は次世代シーケンサーによるターゲットリシーケンスを用いて行う。変異が同定された場合、変異機能解析を行い、FFN あるいは遺伝子 A 関連遺伝子群と糖脂質代謝機構の相互作用の有無を検討し、疾患成立機序の解明まで発展させる。

4. 研究成果

本研究において以下の成果が得られている。

- (1) 対象症例 50 例の検体収集および臨床症状の収集を行った。
- (2) 対象症例全例に次世代シーケンス法・直接シーケンス法による責任遺伝子群の変異解析を行った。
- (3) 変異同定された症例のうち、インシリコ解析で蛋白機能低下が予測される症例は 26 例であった。そのうち、FFN 遺伝子群、遺伝子 A の関連遺伝子群、および HH の既知遺伝子群の変異解析において、2 つの遺伝子以上の変異を有する oligogenicity を示した症例は 13 例であり、compound hetero 変異を示す症例は 2 例、単一遺伝子によるヘテロ変異は 11 例であった。
- (4) 糖脂質代謝への関与が推測される遺伝子 A に変異が同定された症例は 7 例であり、遺伝子 A 単独ヘテロ変異が 1 例、遺伝子 A の compound hetero 変異が 1 例、遺伝子 A に加え、他の遺伝子変異を伴う oligogenicity を示す症例は 5 例であった。
- (5) FFN (FGFR1、FGF21、KLB を含む) 遺伝子群に変異を認めた症例は 2 例であり、内訳は *FGFR1* スプライスサイトヘテロ変異 1 例、*KLB* ヘテロ変異 1 例であった。*FGFR1* スプライスサイトヘテロ変異を有する症例では糖脂質代謝異常は認めず、*KLB* ヘテロ変異は高度肥満の表現型を示すことを見いだした。尚、FGF21 遺伝子には変異を認められなかった。
- (6) 変異陽性例のうち、高度肥満・糖脂質異常の表現型の合併が認められた症例は 2 例

であり、遺伝子 A の compound hetero 変異と *KLB* ヘテロ変異のみであった。両者ともにインシリコ解析で機能低下変異であることが認められている。

- (7) 遺伝子 A において、機能解析で 1 つのヘテロ変異が機能低下変異であることが共同研究者により証明されている。この遺伝子 A の変異を有する症例は、遺伝子 A の compound hetero 変異が 1 例と他の遺伝子変異を伴う oligogenicity を示す症例が 2 例存在するが、遺伝子 A の compound hetero 変異を有する症例は高度肥満、糖代謝異常を示すが、oligogenicity を示す症例は肥満や糖代謝異常を示さなかった。このことから、遺伝子 A ヘテロ変異、遺伝子 A と他の遺伝子変異による oligogenicity では、糖脂質代謝異常を発症せず、遺伝子 A 変異が 2 つ以上見られた場合、糖脂質代謝を示す可能性が示唆された。
- (8) *FFN* 遺伝子群のリガンドの一つである *KLB* 遺伝子変異も糖脂質代謝異常が報告されているが、本研究においても、高度肥満を示す Kallmann 症候群の女性に *KLB* ヘテロ変異が同定されている。*KLB* ヘテロ変異に対する解析は途上であり、家系解析と変異機能解析を行い、糖脂質代謝への関与を検討する予定である。
- (9) 今後、さらに遺伝子 A 変異および *KLB* 変異に対する家系解析および変異機能解析を進め、HH における糖脂質代謝の疾患成立機序を明らかにしていく予定である。

< 引用文献 >

Mitchell AL et al. Genetic basis and variable phenotypic expression of Kallmann syndrome: towards a unifying theory. *Trends Endocrinol Metab* 22:249-58, 2011

Miraoui H et al. Mutations in *FGF17*, *IL17RD*, *DUSP6*, *SPRY4*, and *FLRT3* are identified in individuals with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *The Am J Hum Genet* 92:725-743, 2013

Dhindsa S et al. Frequent occurrence of hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 89:5462-8, 2004

Owen BM et al. *FGF21* contributes to neuroendocrine control of female reproduction. *Nature Medicine* 19:1153-56, 2013

Izumi Y et al. Genome-wide copy number analysis and systematic mutation screening in 58 patients with hypogonadotropic hypogonadism. *Fertil Steril*.102:1130-1136, 2014

Sato N. Genetics of male hypogonadotropic hypogonadism. *Pediatric Endocrinology Reviews*. 1:110-25, 2012

佐藤直子 Kallmann 症候群の病因・病態 日本生殖内分泌学会雑誌 研究フロンティア 第 17 号 43-48, 2012

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

田中敏章、佐藤直子 他 Near Adult height で受診した男子の臨床的特徴と蛋白同課ホルモン治療の効果 日本成長学会雑誌 査読あり 第 24 巻第 1 号 p28-34, 2018

Sato N (1 番目)(他 10 名) Treatment situation of male hypogonadotropic hypogonadism in pediatrics and proposal of testosterone and gonadotropins replacement therapy protocols. Clin Pediatr Endocrinol 査読あり 24:(2):37-49, 2015

Noda M, Sato N, Tanaka T Growth failure starts from early infancy in children with short stature at age 6. Clin Pediatr Endocrinol. 査読あり 24:1-10, 2015

[学会発表](計 15 件)

佐藤直子、田中敏章 男性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症における小児期の治療 招待講演 第 28 回臨床内分泌 update 福岡県、福岡市 2018 年

佐藤直子 高身長女子 2 例に対するサンドスタチン LAR とカウフマン療法による成長抑制の効果 第 52 回小児内分泌学会学術集会 東京 2018 年

佐藤直子 小児期男性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の発達を考慮した新規治療指針による長期治療効果 第 91 回日本内分泌学会学術集会 宮崎 2018 年

佐藤直子 Phenotypic discordance を認めた CHARGE 症候群家系例における表現型 - 遺伝子型解析 第 62 回日本人類遺伝学会 神戸 2017 年

佐藤直子 成長・性成熟・将来の生殖能力を考慮した新しい治療指針に対する小児期 MHH の長期治療経過 第 51 回小児内分泌学会学術集会 大阪 2017 年

佐藤直子 Phenotypic discordance を認めた CHARGE 症候群家系例における表現型、遺伝子型解析 第 90 回日本内分泌学会学術集会 京都 2017 年

Naoko Sato rFSH monotherapy prior to hCG-rFSH combination therapy is an effective new treatment to achieving future fertility in adolescent patients with congenital male hypogonadotropic hypogonadism. 第 99 回米国内分泌学会学術集会米国 フロリダ 2017 年

佐藤直子 Phenotypic discordance を認めた CHARGE 症候群家系例における表現型 - 遺伝子型解析 第 50 回小児内分泌学会学術集会 東京都 千代田区 2016 年

佐藤直子 低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の診断と治療 第 8 回低身長外来研究会 (招待講演) 東京 2016 年

Naoko Sato rFSH monotherapy prior to hCG-rFSH combination therapy is an effective new treatment to achieving future fertility in adolescent patients with congenital male hypogonadotropic hypogonadism. APPEJ-JPSPE Joint meeting, Tokyo Japan, 2016

Naoko Sato rFSH monotherapy prior to hCG-rFSH combination therapy is an effective new treatment to achieving future fertility in adolescent patients with congenital male hypogonadotropic hypogonadism 第 13 回国際人類遺伝学会 京都 2016 年

佐藤直子 rFSH 単独先行療法は低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の妊孕性獲得に有効な新規治療法である。第 90 回日本内分泌学会学術集会 京都 2016

佐藤直子、細川彰子、北中幸子、小笠原敦子、野田雅裕、田中敏章 先天性男性中枢性性腺機能低下症:rFSH 先行療法の試み 第 25 回臨床内分泌 update 学会学術集会 東京 2015

佐藤直子 rFSH 先行療法の治療経験：先天性男性中枢性性腺機能低下症の妊孕性獲得に対する新しい治療法の試み 第 49 回日本小児内分泌学会学術集会 船堀 2015

佐藤直子、田中敏章 低身長思春期発来 of GHD 小児における GH と GnRH アナログ併用療法の成人身長に対する治療効果 第 118 回小児科学会学術集会 東京 2015

〔図書〕(計 2 件)

佐藤直子 男性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の小児に対する治療 科学評論社 内分泌・糖尿病・代謝内科編集部 第 44 巻 第 1 号 P39-44, 2017 1 月発行

佐藤直子 Kallmann 症候群 小児内分泌学テキスト 第 2 版 日本小児内分泌学会編 診断と治療社 p297-304, 2016

6 . 研究組織

(1) 研究分担者氏名： 瀬尾 美鈴

ローマ字氏名： Seo, Misuzu

所属研究機関名： 京都産業大学

部局名： 総合生命科学部

職名：教授

研究者番号： 60211223

(2) 研究協力者： 該当なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。