

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：82612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K10091

研究課題名(和文)先天性副腎低形成症および先天性ACTH不応症の新規原因遺伝子の解明

研究課題名(英文)Exploration of novel causative genes for adrenal hypoplasia congenital and familial isolated glucocorticoid deficiency

研究代表者

勝又 規行(KATSUMATA, NORIYUKI)

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・分子内分泌研究部・研究員

研究者番号：10260340

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ミトコンドリア電子伝達系であるグルタチオン系の異常が先天性副腎低形成症/ACTH不応症の原因となり得ると考え、責任遺伝子が同定されていない先天性副腎低形成症/ACTH不応症の家系で、GSR遺伝子およびGPX4遺伝子を見出し、新規原因遺伝子候補として解析したが病的バリエーションは認められなかった。そこで、NNT異常によるACTH不応症患者およびその母親のリンパ芽球様細胞株のRNA-Seqを行った。そのデータを用いたパスウェイ解析により、NNT遺伝子上流に位置する遺伝子としてCLPP遺伝子を同定した。CLPP遺伝子を見出し、新規原因遺伝子候補として上記の患者で解析を行ったが、病的バリエーションは認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

責任遺伝子が同定されていない先天性副腎低形成症/ACTH不応症の家系で、GSR遺伝子、GPX4遺伝子およびCLPP遺伝子を見出し、新規原因遺伝子候補として解析したが、病的バリエーションは認められなかった。したがって、先天性副腎低形成症/ACTH不応症には、依然として未知の責任遺伝子が存在し、今後更なる検索が必要であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We hypothesized that abnormalities in the mitochondrial glutathione system might cause adrenal hypoplasia congenital (AHC) or familial isolated glucocorticoid deficiency (FIGD), and analyzed the GSR and GPX4 genes in AHC and FIGD patients with unknown etiology. However, we found no pathological variants in these genes. Then, we performed RNA-Seq analyses in lymphoblastoid cells from a patient with FIGD caused by the NNT gene mutations and her mother, and identified the CLPP gene at upstream of NNT. We considered CLPP a novel candidate gene causing AHC or FIGD, and analyzed it in AHC and FIGD patients with unknown etiology. However, we found no pathological variants in the gene.

研究分野：分子内分泌学

キーワード：先天性副腎低形成症 先天性ACTH不応症 ミトコンドリア電子伝達系 NNT遺伝子 GSR遺伝子 GPX4遺伝子 RNA-Seq CLPP遺伝子

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、研究者個人に帰属します。

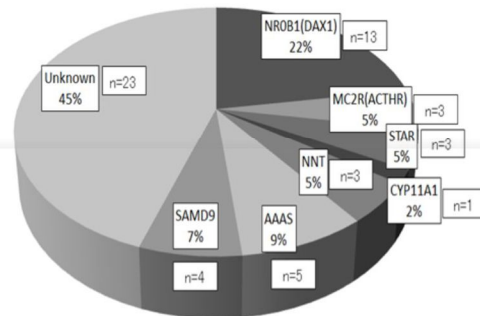
1. 研究開始当初の背景

先天性副腎低形成症および先天性 ACTH不応症（先天性副腎低形成症/ACTH不応症）は、副腎の形成・ACTH の作用が損なわれる疾患であり、両者の鑑別は必ずしも容易でない。先天性副腎低形成症/ACTH不応症の原因としては、表 1 に既知責任遺伝子として示した、副腎の形成、ACTH シグナルの伝達系、プレグネノロン合成系およびミトコンドリアの電子伝達系にかかわる因子の異常が知られている。

表1.解析を完了している先天性副腎低形成症/ACTH不応症の責任遺伝子

既知責任遺伝子	候補責任遺伝子
NR5A1 (SF1)	FDX
NR0B1 (DAX1)	FDXR
MC2R (ACTHR)	TRERF1 (TReP-132)
MRAP	
STAR	
CYP11A1 (P450SCC)	
NNT	
TXNRD2	
AAAS	
SAMD9	

図1. 先天性副腎低形成症/ACTH不応症58家系の責任遺伝子



われわれは、全国の小児科医の協力を得て、先天性副腎低形成症/ACTH不応症と臨床診断された58家系のDNA検体を集積し、表1に示した既知責任遺伝子・候補責任遺伝子の解析を行った。その結果を図1に示した。その成果として、世界に先駆けてCYP11A1欠損症を報告したこと、SAMD9変異が副腎低形成症を含む新しい症候群(MIRAGE症候群)を発症することを報告したことが挙げられる。さらに注目すべき点は、責任遺伝子が同定されない家系が半数近くの23家系も存在することである。これらの家系は、新規責任遺伝子を検索するための貴重な家系と考えられる。

また、われわれはNNT異常による先天性ACTH不応症の患者からリンパ芽球様細胞株を確立し、生化学的解析を行い、患者セルラインではNNTメッセンジャーRNAは検出できるが、ミトコンドリア分画にはNTT蛋白がほとんど検出できないことを確認した。したがって、この細胞株は、NNT遺伝子異常を反映しており、NTT異常がミトコンドリアの電子伝達系を含む細胞機能に及ぼす影響を探る貴重な細胞モデルであると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、責任遺伝子が同定されていない先天性副腎低形成症および先天性 ACTH不応症（先天性副腎低形成症/ACTH不応症）の家系を対象として、これまでの原因遺伝子から推測される候補遺伝子、およびNNT異常による先天性ACTH不応症患者のリンパ芽球様細胞株を用いた解析から推測される候補遺伝子の解析を行うことにより、先天性副腎低形成症/ACTH不応症の新規原因遺伝子を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

責任遺伝子が同定されていない先天性副腎低形成症/ACTH不応症の23家系およびその疑いのある4家系を対象として、1)これまでの原因遺伝子から推測される候補遺伝子、および2)NNT異常症患者の細胞株を用いた解析から推測される候補遺伝子を解析することにより、先天性副腎低形成症/ACTH不応症の新規原因遺伝子を解明する。1)これまでの原因遺伝子から推測される候補遺伝子

近年、先天性副腎低形成症/ACTH不応症の原因として、ミトコンドリア電子伝達系の蛋白をコードするNNT遺伝子およびTXNRD2遺伝子が同定された。したがって、もう一つのミトコンドリア電子伝達系であるグルタチオン系の異常も、先天性副腎低形成症/ACTH不応症の原因となり得ると考えられる。そこで、責任遺伝子が同定されていない先天性副腎低形成症/ACTH不応症の23家系およびその疑いの4家系で、ミトコンドリアのグルタチオン還元酵素をコードするGSR遺伝子、グルタチオンペルオキシダーゼをコードするGPX4遺伝子を候補遺伝子として、その各エクソンをPCR法で増幅し、ABI PRISM 310 Genetic Analyzerを用いてPCR産物の塩基配列を決定した。

2) NNT異常症患者の細胞株を用いた解析から推測される候補遺伝子の解析

NNT蛋白を欠損している先天性ACTH不応症患者およびその欠損がない母親のリンパ芽球様細胞株からRNAを抽出してRNA-Seq解析を行い、患者およびその母親の発現遺伝子のデータを得た。得られた発現遺伝子データを、パスウェイ解析ソフトIPAを用いて解析し、新規原因遺伝子を推測して、上記の家系で解析した。

4. 研究成果

1) これまでの原因遺伝子から推測される候補遺伝子 責任遺伝子が同定されていない先天性副腎低形成症/ACTH不応症の23家系およびその疑

いの4家系で、ミトコンドリアのグルタチオン還元酵素をコードするGSR遺伝子、グルタチオンペルオキシダーゼをコードするGPX4遺伝子を解析したが、病的バリエーションは検出できなかった。

2) NNT異常症患者の細胞株を用いた解析から推測される候補遺伝子の解析

NNT蛋白を欠損している先天性ACTH不応症患者およびその欠損がない母親のリンパ芽球様細胞株からRNAを抽出してRNA-Seq解析を行い、患者およびその母親の発現遺伝子のデータを得た。得られた発現遺伝子データを、パスウェイ解析ソフトIPAを用いて解析し、NNTの上流に位置する遺伝子として、CLPP遺伝子を同定した(図2)。CLPP遺伝子は先天性副腎低形成症/ACTH不応症の新規原因遺伝子候補と考えられたので、責任遺伝子が同定されていない先天性副腎低形成症/ACTH不応症の22家系およびその疑いの4家系で、CLPP遺伝子を解析したが、病的バリエーションは検出できなかった。

以上の研究結果から、先天性副腎低形成症/ACTH不応症には、依然として未知の責任遺伝子が存在し、今後更なる検索が必要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Onuma S, Fukuoka T, Miyoshi Y, Fukui M, Satomura Y, Yasuda K, Kimura T, Tachibana M, Bessho K, Yamamoto T, Tanaka H, Katsumata N, Fukami M, Hasegawa T, Ozono K	4. 巻 30 (3)
2. 論文標題 Two girls with a neonatal screening-negative 21-hydroxylase deficiency requiring treatment with hydrocortisone for virilization in late childhood.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clin Pediatr Endocrinol	6. 最初と最後の頁 143-148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1297/cpe.30.143	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ishii T, Tajima T, Kashimada K, Mukai T, Tanahashi Y, Katsumata N, Kanno J, Hamajima T, Miyako K, Ida S, Hasegawa T	4. 巻 105 (11)
2. 論文標題 Clinical features of 57 patients with lipoid congenital adrenal hyperplasia: Criteria for nonclassic form revisited	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Clin Endocrinol Metab	6. 最初と最後の頁 e3929-e3937
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/clinem/dgaa557	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tomohiro Ishii, Naoaki Hori, Naoko Amano, Misaki Aya, Hirotaka Shibata, Noriyuki Katsumata, Tomonobu Hasegawa	4. 巻 3 (7)
2. 論文標題 Pubertal and adult testicular functions in nonclassic lipoid congenital adrenal hyperplasia: a case series and review	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Endocr Soc	6. 最初と最後の頁 1367-1376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/js.2019-00086	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 福岡智哉, 三善陽子, 大沼真輔, 和田珠希, 里村宜紀, 安田紀恵, 山本景子, 木村武司, 橘真紀子, 別所一彦, 山本威久, 勝又規行, 大園恵一	4. 巻 95 (Suppl)
2. 論文標題 男性化徴候を契機に診断された非古典型21水酸化酵素欠損症の一例	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本内分泌学会雑誌	6. 最初と最後の頁 128-130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrine.95.S.Update_128	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 勝又規行	4. 巻 68
2. 論文標題 副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)不応症	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 新薬と臨床	6. 最初と最後の頁 385-388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 田島敏広, 長谷川奉延, 石井智弘, 鹿島田健一, 高澤啓, 勝又規行, 棚橋祐典, 向井徳男
2. 発表標題 先天性副腎過形成症スクリーニングの現状と課題
3. 学会等名 第124回日本小児科学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 天野直子, 鳴海覚志, 会津克也, 宮澤真理, 勝又規行, 石井智弘, 長谷川奉延
2. 発表標題 副腎低形成症の新たな遺伝的病因の同定: ZNRF3遺伝子のエクソン2欠失
3. 学会等名 第54回日本小児内分泌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石井智弘, 田島敏広, 鹿島田健一, 向井徳男, 棚橋祐典, 勝又規行, 菅野潤子, 濱島崇, 都研一, 位田忍, 長谷川奉延
2. 発表標題 本邦の先天性リポイド副腎過形成症における病型別の頻度と表現型の解明
3. 学会等名 第54回日本小児内分泌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内木康博, 宮戸真美, 堀川玲子, 阿久津英憲, 勝又規行, 深見真紀
2. 発表標題 AAVベクターによる11 水酸化酵素欠損症の遺伝子治療モデル作成
3. 学会等名 第54回日本小児内分泌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内木康博, 宮戸真美, 堀川玲子, 高田修治, 勝又規行, 深見真紀
2. 発表標題 11 水酸化酵素欠損症モデルマウスに対するAAVベクターによる遺伝子治療の試み
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石井智弘, 鹿島田健一, 棚橋祐典, 向井徳男, 田島敏広, 勝又規行, 長谷川奉延
2. 発表標題 本邦の先天性リポイド副腎過形成症の有病率と病型別臨床像の解明
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 太田知子, 勝又規行, 内木康博, 堀川玲子
2. 発表標題 DAX-1新規ノンストップ変異を有した先天性副腎低形成症の兄弟
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石井智弘, 堀尚明, 天野直子, 綾美咲, 柴田洋孝, 勝又規行, 長谷川奉延
2. 発表標題 非古典型先天性リポイド副腎過形成症の思春期・成人期の精巣機能
3. 学会等名 第53回日本小児内分泌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大沼真輔, 三善陽子, 福岡智哉, 福井美穂, 里村宜紀, 安田紀恵, 木村武司, 橘真紀子, 別所一彦, 山本威久, 勝又規行, 田中弘之, 大園恵一
2. 発表標題 男性化徴候から学童期に診断され、補充療法を要した21水酸化酵素欠損症の2例
3. 学会等名 第53回日本小児内分泌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内木康博, 宮戸真美, 堀川玲子, 高田修治, 勝又規行, 深見真紀
2. 発表標題 11 水酸化酵素欠損症モデルマウスを用いたAAV9ベクターによる遺伝子治療の試み
3. 学会等名 第53回日本小児内分泌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内木康博, 宮戸真美, 堀川玲子, 高田修治, 勝又規行, 深見真紀
2. 発表標題 11 水酸化酵素欠損症モデルマウスを用いたAAV9ベクターによる遺伝子治療の試み
3. 学会等名 第27回日本ステロイドホルモン学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 棚橋祐典, 鈴木滋, 鹿島田健, 向井徳男, 勝又規行, 石井智弘, 田島敏広, 長谷川奉延
2. 発表標題 本邦における21水酸化酵素欠損症の予後調査
3. 学会等名 第29回臨床内分泌代謝Update
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内木康博, 宮戸真美, 長谷川雄一, 堀川玲子, 高田修治, 勝又規行, 深見真紀
2. 発表標題 AAVベクターを用いた線維芽細胞への遺伝子導入による先天性副腎皮質過形成の遺伝子治療の試み
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内木康博, 宮戸真美, 長谷川雄一, 堀川玲子, 高田修治, 勝又規行, 深見真紀
2. 発表標題 AAVベクターを用いた遺伝子導入による先天性副腎皮質過形成の遺伝子治療の試み
3. 学会等名 第52回日本小児内分泌学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福岡智哉, 三善陽子, 大沼真輔, 和田珠希, 里村宜紀, 安田紀恵, 山本景子, 木村武司, 橘真紀子, 別所一彦, 山本威久, 勝又規行, 大園恵一
2. 発表標題 男性化徴候を契機に診断された非古典型21水酸化酵素欠損症の一例
3. 学会等名 第28回臨床内分泌代謝Update
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 勝又規行, 小笠原敦子, 泉維昌, 田苗綾子, 徳弘悦郎, 木下朋絵, 鬼形和道
2. 発表標題 マススクリーニングで発見された非古典型21水酸化酵素欠損症女児6例のCYP21A2遺伝子解析
3. 学会等名 第90回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 勝又規行
2. 発表標題 CYP21A2遺伝子のフレームシフト変異R483del1nt (CGG>CC) はCYP21A1P偽遺伝子に由来する
3. 学会等名 第51回日本小児内分泌学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naiki Y, Miyado M, Hasegawa Y, Horikawa R, Takada S, Pang S, Katsumata N, Fukami M
2. 発表標題 Induction of CYP21A2 with AAV vector for gene therapy of CAH
3. 学会等名 ENDO 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------