

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：82612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16249

研究課題名（和文）性成熟疾患におけるエピジェネティック異常の検証

研究課題名（英文）Epigenetic analysis in patients with pubertal disorders.

研究代表者

鈴木 江莉奈（Suzuki, Erina）

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・（非）研究員

研究者番号：60726785

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：中枢性思春期早発症（CPP）を対象に遺伝子変異解析、エピジェネティック解析を行い、下記に挙げる成果を得た。インプリンティング遺伝子であるMKRN3は、近年同定されたCPPの原因遺伝子である。アジア諸国CPP患者24例を対象にMKRN3遺伝子の解析を行った。24例中1例にMKRN3遺伝子変異を同定した。エピジェネティック異常は同定されなかった。変異陽性例は、5歳時、乳房発達と陰毛発生が見られた日本人女児である。これらの結果より、アジア諸国CPP患者におけるMKRN3遺伝子変異・エピジェネティック異常の頻度と臨床像が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、アジア諸国CPP患者でのMKRN3遺伝子変異報告は少数であった。また、MKRN3遺伝子のエピジェネティック異常は同定されていない。本研究では、アジア諸国CPP患者におけるMKRN3遺伝子の異常の関与の程度と変異陽性患者の臨床像を明らかにした。本研究の成果は、性成熟疾患の分子基盤の理解につながると期待される。

研究成果の概要（英文）：We performed epigenetic analysis in patients with pubertal disorders, including central precocious puberty (CPP). CPP is a rare multifactorial disorder and can occur as a result of monogenic mutations. The association between epigenetic defects of MKRN3 and CPP has yet to be determined. We performed genetic and epigenetic analyses of MKRN3 in 24 Asian patients with CPP. We identified an MKRN3 gene mutation in one of 24 patients and epigenetic defects in no patient. The mutation-positive patient exhibited CPP from 5 years of age. This study revealed the frequency and phenotypic consequences of MKRN3 abnormalities.

研究分野：代謝および内分泌学関連

キーワード：エピジェネティック

1. 研究開始当初の背景

これまで研究代表者は、性成熟疾患患者を対象とした遺伝学的異常のスクリーニングを次世代シーケンシングやアレイ比較ゲノムハイブリダイゼーション法を用いて行い、患者の約 30%において遺伝学的異常を同定した。一方、残りの約 70%の患者は病因が不明であり、その背景には通常のゲノム DNA 解析では異常を捉えられないエピジェネティック異常が関わっている可能性があるかと推測された。既存のゲノム解析によって異常が検出されなかった症例に対し、DNA メチル化解析などのエピジェネティックな解析を行った。

2. 研究の目的

性成熟疾患成立におけるエピジェネティック異常の関与の有無と変異陽性患者の臨床像を検証することである。

3. 研究の方法

性成熟疾患と遺伝子変異・エピジェネティック異常との関連を調べるため、CPP 患者を対象に次世代シーケンサー (NGS)を用いた遺伝子変異解析、real-time PCR を用いたコピー数解析、パイロシーケンサーなどを用いた DNA メチル化解析を行った。また、変異陽性患者の臨床像を検討した。

4. 研究成果

(1) CPP 患者を対象とした遺伝子変異解析、エピジェネティック解析、および、変異陽性患者の臨床データ解析を行い、下記の成果を得た。

アジア諸国 CPP 患者における *MKRN3* 遺伝子の変異・エピジェネティック異常の関与の程度を明確にすることを目的にアジア諸国 CPP 患者 24 例を対象に解析を行った。その結果、24 例中 1 例 (4%)に疾患に關与する *MKRN3* 遺伝子のフレームシフト変異 (p.Glu229Argfs*3)を同定した。変異が同定された症例は、5 歳時、乳房発達、陰毛発生が見られた日本人女児であった。8 歳時、骨年齢は 11 歳であり骨年齢促進を認めた。また、GnRH 負荷試験より思春期レベルの LH/FSH の反応を認めた。家族解析の結果、父と父方祖母にも同一変異を認めた。疾患に關与するメチル化・コピー数の異常は同定されなかった。

以上の結果から、アジア諸国 CPP 患者における *MKRN3* 遺伝子変異は稀であることが示唆される。これまでに CPP 患者の家系例で同定されている全ての *MKRN3* 遺伝子変異は父由来であり、*de novo* 変異は報告がない。欧米諸国では、アジア諸国では見られない複数の創始者変異が同定されている。これらのことが *MKRN3* 遺伝子変異の民族間における陽性率の差に關与していると推測される。以上より、アジア諸国 CPP 患者における *MKRN3* 遺伝子変異・エピジェネティック異常の関与の程度は低いことが明らかとなった。

患者の臨床解析からは、*MKRN3* 遺伝子変異が、比較的軽度の思春期早発を招くことが見出された。患者と同一変異を有する父が無症状であったことは、*MKRN3* が父性発現を示す

インプリンティング遺伝子であることに合致する。従来原因不明であった比較的軽度の CPP 患者には、*MKRN3* 遺伝子変異陽性者が含まれる可能性がある。

(2) 本研究期間には上記に加え、ヒト疾患に関わるエピジェネティック異常として、下記の点を明らかにした。

染色体微細構造異常は *SHOX* 遺伝子上流 CpG サイトの DNA メチル化状態に影響を及ぼさないこと、クラインフェルター症候群患者における X 染色体不活化の偏りは稀であることを見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 3件）

1. 著者名 Suzuki E, Shima H, Kagami M, Soneda S, Tanaka T, Yatsuga S, Nishioka J, Oto Y, Kamiya T, Naiki Y, Ogata T, Fujisawa Y, Nakamura A, Kawashima S, Morikawa S, Horikawa R, Sano S, Fukami M	4. 巻 -
2. 論文標題 (Epi)genetic defects of MKRN3 are rare in Asian patients with central precocious puberty.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Human Genome Variation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41439-019-0039-9.	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 Ogushi K, Hattori A, Suzuki E, Shima H, Izawa M, Yagasaki H, Horikawa R, Uetake K, Umezawa A, Ishii T, Muroya K, Namba N, Tanaka T, Hirano Y, Yamamoto H, Soneda S, Matsubara K, Kagami M, Miyado M, Fukami M.	4. 巻 158
2. 論文標題 DNA Methylation Status of SHOX-Flanking CpG Islands in Healthy Individuals and Short Stature Patients With Pseudoautosomal Copy Number Variations.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cytogenetic and Genome Research	6. 最初と最後の頁 56-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000500468.	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 Kinjo K, Yoshida T, Kobori Y, Okada H, Suzuki E, Ogata T, Miyado M, Fukami M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Random X Chromosome Inactivation in Patients With Klinefelter Syndrome.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Pediatrics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40348-020-0093-x.	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木 江莉奈、坊 亮輔、須恵 香里、栗野 宏之、緒方 勤、鳴海 寛志、鏡 雅代、佐野 伸一郎、深見 真紀
2. 発表標題 偽性副甲状腺機能低下症を招くGNAS遺伝子内構造多様性のゲノム基盤の解明
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木 江莉奈, 島 彦仁, 鏡 雅代, 曾根田 瞬, 田中 敏章, 八ツ賀 秀一, 西岡 淳子, 大戸 佑二, 神谷 敏也, 内木 康博, 緒方 勤, 藤澤 泰子, 中村 明枝, 川嶋 明香, 森川 俊太郎, 堀川 玲子, 佐野 伸一郎, 深見 真紀
2. 発表標題 中枢性思春期早発を招くMKRN3異常の主体は、de novo変異の発生ではなく、父由来変異の伝達である
3. 学会等名 第53回小児内分泌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 江莉奈, 宮戸 真美, 田中 敏章, 八ツ賀 秀一, 西岡 淳子, 緒方 勤, 堀川 玲子, 深見 真紀
2. 発表標題 アジアの中枢性思春期早発症患者においてMKRN3遺伝子変異・異常は稀である
3. 学会等名 第24回日本生殖内分泌学会
4. 発表年 2020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