

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K17287

研究課題名（和文）特発性低身長 of 網羅的遺伝子解析による新規責任遺伝子の探索

研究課題名（英文）Comprehensive genetic analysis of idiopathic short stature in search of novel responsible genes

研究代表者

島 彦仁（Shima, Hirohito）

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：20822878

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究においては、低身長患者をその症候性の有無により2群に分け遺伝学的解析を実施した。5以上の外表奇形を有する症候群の部分症状としての低身長参加者6名においては、SHOX異常を2参加者に、その他の染色体異常を4参加者に同定した。一方外表奇形の目立たない低身長参加者35名においては、SHOX異常は同定されず、その他のレアバリエーションが3名で同定された。SHOX異常症の2参加者はいずれもMadelung変形を有するLeriWeill症候群であった。これらの成果は、症候性低身長患者におけるコピー数異常解析の重要性を示す一方で、特発性低身長患者でのさらなる解析の重要性を示す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

身長は80%以上を遺伝学的な要因によって決定されていますが、その遺伝子異常はよくわかっていません。私たちは、低身長患者のうち、複数の体の変化を有する患者さんでは低身長に染色体の一部が短くなる変化が比較的多く含まれていることを明らかにしました。一方、何らかの症状を合併していない患者さんでは染色体の長さの変化の関与は小さいと考えられます。本研究の成果は、今後の低身長患者さんの病態を検討する際の基礎的な資料になるとともに、現在研究でしか行われていない検査がひろく普及することの重要性を示すものです。

研究成果の概要（英文）： In this study, patients with short stature were divided into two groups according to their symptomatic status. 6 participants with short stature as a partial manifestation of a syndrome were identified as having SHOX abnormalities in 2 participants and other chromosomal abnormalities in 4 participants. 35 participants with short stature without visible external malformations were identified as having no SHOX abnormalities and other rare variants in 3 participants. 2 participants with SHOX abnormality had LeriWeill syndrome with Madelung deformity. These results demonstrate the importance of copy number analysis in patients with symptomatic short stature, but also the importance of further analysis in patients with idiopathic short stature.

研究分野：小児内分泌学

キーワード：低身長 コピー数異常 全ゲノムシーケンス アレイCGH

1. 研究開始当初の背景

成長は、小児期の健康において根幹となる顕要な事項である。成長は全ての臓器を構成する細胞が、数的な増加、肥大、アポトーシスなどの様々なプロセスを秩序だてて行うことで達成される。成長過程の制御は、遺伝子型などの内因的な要因と、栄養や環境の様な外的な要因、内分泌や成長因子などの調整因子など様々な因子が緊密に関連している。成長には、身長と体重の二つの側面が含まれ、身長は、より遺伝的な要因が大きいと考えられる。成人身長の約 80% は遺伝により規定される (Durand C, et al, Nat Rev Endocrinol, 2013.)。低身長は、骨格異常等を合併する症候性低身長と、低身長以外の症状がない非症候性低身長に大別される。一方、この区分は臨床的診断に基づくが明瞭なものではなくスペクトラムをとらえる方が現実的である。具体的には、典型的な低身長の責任遺伝子である SHOX の半量不全では、Madelung 変形を特徴とする Leri-Weill 症候群を呈するが、Madelung 変形は性ホルモンにより進行することが知られている。したがって、幼児期には Madelung 変形の存在が診断されず、「非症候性」低身長 (ISS) と認識されることがありうる。これらの様に臨床的に ISS と診断される患者の遺伝学的背景は多様であり、

米国では ISS に対する GH 治療が行われているが、成人身長を改善する効果は患者間の差異が大きいとされる (Deodati A, et al, BMJ, 2011.)。この GH の有効性の違いは、ISS 患者が遺伝的に多様な集団であることも要因と考えられる。

従って、詳細な遺伝子診断により、従来 ISS と診断されていた患者の中に、GH が有効である患者群を特定できると考えられる。

実際に、性染色体短腕の擬常染色体領域 (PAR1) に位置する代表的な身長関連遺伝子である SHOX の半量不全による低身長症は、ターナー症候群の低身長と病因を共有し、GH の薬理学的有効性が欧州では確立している。また、ISS に対し GH 治療を行った患者のうち、IHH の変異陽性患者は、変異のない患者と比較して GH の有効性が高いことが報告されている (Vasques GA, et al, J Clin Endocrinol Metab. 2018)。骨格などの異常がない低身長患者における原因遺伝子は、成長ホルモン-IGF1 系に関連する遺伝子 (GHI, GHR, IGF1 など) と SHOX, FGFR3 などごく少数に限られる。このうち、内分泌学的検査により診断可能な GH-IGF1 系を除いた遺伝子異常では、SHOX 異常の頻度が最も高く、我々の過去の研究によれば日本人 ISS 患者における SHOX 異常の頻度は 3.8% であった (Shima H, et al, J Hum Genet. 2016.)。しかしながら、この研究を含む過去の SHOX 研究では、解析を実施した患者を母集団としており、検体収集バイアスの可能性がある。したがって、実際にはより多くの SHOX 異常症患者の存在が想定されていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、低身長を主訴として小児内分泌専門外来を受診した患者を母集団として、低身長の遺伝学的な背景を明らかにすることにより、既存の低身長治療薬である成長ホルモンの有効な患者群の特定を行うことを目的とする。

併せて、低身長患者の遺伝学的背景を明確にし、今後の治療の基盤となすことを目的とする。

3. 研究の方法

研究期間中に東北大学病院小児科を受診した低身長患者を母集団として、遺伝学的解析を実施した。

すべての患者について、身長、体重、骨年齢を測定した。また、出生後の母子手帳・学校等の身長記録に基づく SD 値の変化を調査した。併せて臨床遺伝学的な診察を行い、外反肘、小顎、高口蓋、指極の短縮などの SHOX 半量不全に合致する症状に加え、外表小奇形 (耳介・眼瞼・口唇などの顔貌の異常、四肢や指などの変形、皮膚などの異常) の有無を評価した。なお、この評価は、国際基準に基づく小奇形アトラス (Elements of Morphology: Standard Terminology, American Journal of Medical Genetics) に沿って実施した。

母集団のコホートを対象にして遺伝学的解析を実施した。

母集団のコホートのうち、5 個以上の小奇形が記録されたケースを「Cohort A」記録されなかったケースを「Cohort B」とした。

1) MLPA 法による、SHOX 近傍のコピー数異常の解析。

参加者全員 (Cohort A, Cohort B) を対象に SHOX 近傍のコピー数異常の解析を実施した。

Cohort A

2) 有意な SHOX 近傍の CNV が同定されなかった Cohort A の参加者を対象に、アレイ CGH 法による網羅的コピー数解析を実施した。

3) 2) で有意な CNV を同定されなかった Cohort A 参加者を対象に、成長障害関連遺伝子のターゲットトリシークエンスを実施した。

Cohort B

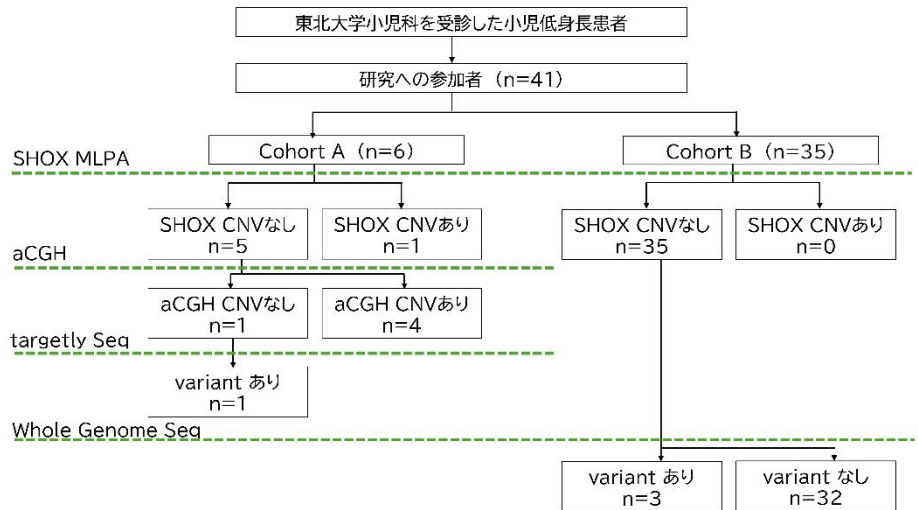
- 4) 1)の解析にて、有意な SHOX 近傍の CNV が同定されなかった Cohort B の参加者のうち、同意を得られた参加者を対象に、全ゲノムシーケンスによる網羅的解析を実施した。

4. 研究成果

0) 研究期間中に東北大学病院小児科した小児低身長患者のうち、41 名の患者が研究に参加した。(当初研究期間中には、新型コロナウイルス感染症の流行に伴い、同症の受診患者数が大幅に低下したため、研究期間を延長しコホートの構築に努めた。)

この参加者のうち、Cohort A に分類された患者は 6 名であった。

また、Cohort B に分類された患者は 35 名であった。



1) SHOX 近傍のコピー数解析

Cohort A の参加者 1 名で、SHOX 近傍のコピー数異常を同定した。参加者は Madelung 変形を有する Leri-Weill 症候群患者であった。同定されたコピー数異常は、SHOX 下流のエンハンサー候補領域のみの欠失であり、病的と考えられた。Cohort B にはコピー数異常患者は同定されなかった。この変化は病的と考えられた。

また、SHOX MLPA の 1 プローブで欠失と Call され、プローブ設計配列上の一塩基置換をサンガー法で確認した参加者が 1 名いた。

2) 網羅的 aCGH 解析 (Cohort A)

対象参加者 5 名のうち 4 名で、コピー数異常を同定した。

具体的には、22q11.2 微細欠失症候群、1p31.1-31.3 微細欠失症候群、6p25 微細欠失症候群、3q29 微細欠失及び Xp22.31 微細欠失症候群を同定した。この変化は病的と考えられた。

3) 成長障害関連遺伝子 16 遺伝子 Targetly Sequence での解析

参加者 1 名で、SHOX ナンセンスレアバリエーションを同定した。参加者は Madelung 変形を有する Leri-Weill 症候群患者であった。この変化は病的と考えられた。

4) 全ゲノムシーケンスによる網羅的解析

Cohort B の患者で、低身長との関連が示唆される、*IGF1*、*GDF1* の他、先天性心疾患の原因として報告のある *TAB2* のレアバリエーションを同定した。いずれも病的である可能性が高いと考えられ、臨床サイドにて関連表現型の追加解析を実施している。一方、全ゲノムシーケンスではコピー数異常は同定されなかった。

本研究により、SHOX 異常症が 2 例で同定された。これらの結果は既報の結果に近似するものであり、SHOX 異常症が低身長の数%を占めることを明確にした。また、臨床症状の詳細な評価により、低身長を主訴に受診した患者の一部では aCGH 解析により遺伝学的病因を同定できる可能性が明らかになった。特筆すべき点として、aCGH で CNV が同定された患者では全例で何らかの知的発達の異常が指摘されている。知的障害、発達障害の診療にあたってはその表現型評価により外表奇形が一定程度認められた場合には、aCGH による解析が有用である可能性がある。なお、本研究期間中に、SHOX 異常症に対する GH 治療が適応になったことから、骨端線閉鎖前の症例では GH 治療につながった。

上記の成果は、低身長患者の遺伝学的背景解明の基盤となるものである。特に、近年、非コード領域のバリエーションが内分泌疾患の原因であることが明らかになっており(Narumi S, et al. Nat Genet. 2024), 本研究で集積したデータの活用による非コード領域異常も含めた検討が望まれる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1 . 著者名 Hirohito Shima1, Akinobu Miura, Sayaka Kawashima, Ikumi Umeki, Chisumi Sogi, Dai Suzuki, Yusuke Takezawa, Ryo Sato, Natsuko Arai-Ichinoi, Miki Kamimura, Ikuma Fujiwara, Mika Adachi, Aya Yamada, Hiroshi Kawame, Atsuo Kikuchi, Junko Kanno	4 . 巻 Under Review
2 . 論文標題 Solitary median maxillary central incisor syndrome caused by 22q11.2	5 . 発行年 2024年
3 . 雑誌名 Clinical Pediatric Endocrinology	6 . 最初と最後の頁 Under Review
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 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 1件）

1 . 発表者名 島彦仁，菅野潤子，梅木郁美，鈴木大，上村美季，箱田明子，呉繁夫，藤原幾磨
2 . 発表標題 体格左右非対称を認めたシルバーラッセル症候群の姉弟例
3 . 学会等名 日本小児内分泌学会（京都市、2019/9/26-28）
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 島彦仁，曾木千純，梅木郁美，鈴木大，上村美季，箱田明子，菅野潤子，呉繁夫，藤原幾磨
2 . 発表標題 橋本病患者では低Caに対するPTHの分泌が低下する症例が存在する
3 . 学会等名 日本内分泌学会学術集会（仙台市、2019/5/9-11）
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Hirohito Shima, Chisumi Sogi, Ikumi Umeki, Dai Suzuki, Miki Kamimura, Akiko Saito-Hakoda, Junko Kanno, Shigeo Kure, Ikuma Fujiwara
2 . 発表標題 Serum PTH does not correlate with their serum calcium levels in some children and adolescents with Hashimoto thyroiditis
3 . 学会等名 欧州小児内分泌学会（オーストリア・ウィーン、2019/9/19-21）（国際学会）
4 . 発表年 2019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
研究協力者	菅野 潤子 (Kannno Junnko)		
研究協力者	鈴木 大 (Suzuki Dai)		
研究協力者	川嶋 明香 (Kawashima Sayaka)		

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
---------	---------