

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月18日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591324

研究課題名（和文）IGF-I 受容体異常症の解明：新規変異遺伝子の探索と機能解析および表現型の検討

研究課題名（英文）Anomalies of IGF-I receptor: Functional and phenotypical analysis of novel IGF-I receptor gene mutation

研究代表者

神崎 晋 (KANZAKI SUSUMU)

鳥取大学・医学部・教授

研究者番号：90224873

研究成果の概要（和文）：

SGA で出生し、低身長と血中 IGF-I 値の高値を示した女兒とその母に IGF 受容体 (IGF-IR) の β 鎖の自己リン酸化領域に、Asp1105Glu 変異をヘテロで見出した。変異 IGF-IR 遺伝子導入細胞は、①IGF-I 添加による IGF-IR の自己リン酸化が弱く、②野生型 IGF-IR 遺伝子と変異 IGF-IR 遺伝子を共発現で野生型 IGF-IR のリン酸化が抑制された。本変異 IGF-IR 遺伝子は dominant negative 作用を有する。

研究成果の概要（英文）：

We identified heterozygous mutation (Asp1105Glu) of the IGF-IR gene in a Japanese girl with high serum IGF-I levels and with SGA short stature and her mother. Cells transfected with mutated IGF-IR gene did not show any autophosphorylation of IGF-IR in response to IGF-I. Co-transfection of mutated IGF-IR gene and wild-type IGF-IR gene resulted in dominant negative effects on autophosphorylation of wild-type IGF-IR.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：小児内分泌学

1. 研究開始当初の背景

成長ホルモン(GH)の作用を仲介するインスリン様成長因子 [(insulin-like growth factor (IGF)] -I は、IGF-II とともに、骨発育に最も重要な成長因子である。IGF-I の作用は、主にインスリン受容体と類似した構造を有する1型IGF受容体を介して発揮される。1型IGF受容体ノックアウトマウスは、

①胎内発育遅滞(IUGR)、および
②出生直後より成長障害を来す (Liu J. et al. Cell 75: 59, 1993).

③1型IGF受容体と類似した構造を有するインスリン受容体では多くの遺伝子変異が報告されている。

従って、IUGRに伴う低身長児の中に1型IGF受容体異常症が含まれる可能性がある。

現在、IUGR 性低身長に対して GH 投与が試みられて行われている。しかし、GH 投与に伴う血中 IGF-I の上昇と身長増加は必ずしも一致していない。これに IGF 受容体の機能異常が関与している可能性がある

2. 研究の目的

研究の背景に基づき、本研究は以下の点について明らかにする。

1) 原因不明の低身長児、特に IUGR に伴う低身長児、を対象に 1 型 IGF 受容体の遺伝子解析を行い、1 型 IGF 受容体の異常に起因する成長障害を明らかにする

2) In vitro の系を用いて、見出した 1 型 IGF 受容体遺伝子異常がその機能に及ぼす影響を明らかにする。

3. 研究の方法

1) 原因不明の IUGR 性低身長児、及び GH 不応症児で、1 型 IGF 受容体 (IGF-IR) 遺伝子を最初に SSCP と direct sequence 法で解析する。

2) IGF-IR 遺伝子変異を有する人の線維芽細胞を用いて、IGF-I 結合能と、IGF-IR β 鎖、IRS2 の自己リン酸化等の機能解析を行う。

3) 見出された変異 IGF-IR 遺伝子を、IGF-IR KO CHO 細胞に組み込み、機能解析を行う。

4. 研究成果

【症例】7 歳女児。在胎 37 週 2 日で、出生体重が -1.8 SD、出生時身長が -2.5 SD と SGA で出生した。家族歴では、母親が 137 cm と低身長で、満期産で 2,200 gr (-2.2 SD) と低体重で出生している。また、母方の祖父も 150 cm と低身長である (Fig 1)。症例は、SGA 性低身長として成長ホルモン治療され、身長増加のわずかに改善した。5 歳時の検査所見で、血清 IGF-I は著明高値 (372 ng/dL, 4.3 SD) を示し、GRF による GH 分泌負荷試験にて、軽度の GH 過剰分泌を認めた。

【遺伝子解析】

SGA 性低身長を示している症例と母親に、IGF-IR 遺伝子 EX18、チロシンキナーゼドメインの 1105 番目のアスパラギン酸がグルタミンに変化するミスセンス変異がヘテロ接合体で認められた。

【変異遺伝子の機能解析】

BrdU 染色を用いた DNA 合成能の検討で、変異 IGF-IR 導入細胞は IGF-I 刺激による DNA 合成能が低下していた。

しかし、 125 I-IGF-I を用いた変異 IGF-IR 導入細胞の IGF-I 結合能正常であった。本変異はチロシンキナーゼドメイン部に存在しているため、IGF-IR の自己リン酸化について検討した。変異 IGF-IR 遺伝子導入細胞では、

IGF-I による自己リン酸化が消失していた。

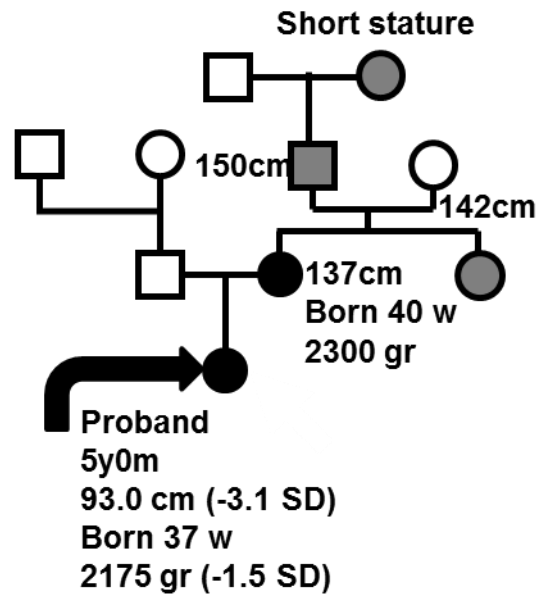


Fig 1. Pedigree of IGF-IR gene mutation

次に、この変異の dominant negative 作用について検討した。IGF-IR の発現していない IGF-IR ノックアウトマウス由来の細胞に、正常 IGF-IR 遺伝子と変異 IGF-IR 遺伝子、正常 IGF-IR 遺伝子と空ベクターを導入し比較したところ、変異 IGF-IR 遺伝子を導入した細胞は正常 IGF-IR 遺伝子を導入したにもかかわらず、リン酸化が認められなかった (Fig 2)。

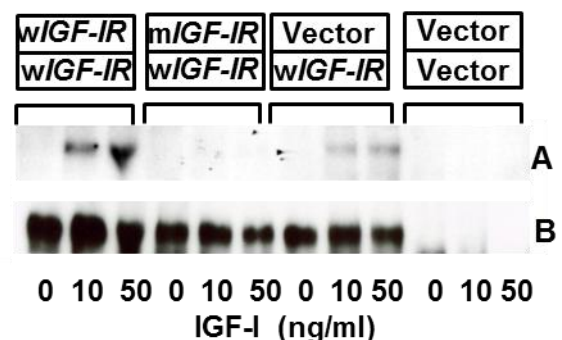


Fig. 2. Dominant negative effects of mutated IGF-IR gene.

A, phosphorylated β subunit
B, β subunit

【結論】

- ①新たに IGF-IR 遺伝子ヘテロミスセンス変異(Asp1105Glu)を伴った家族性低身長(SGA性低身長)を見出した。
- ②本変異は、IGF-IR の自己リン酸化障害と Dominant negative 作用により、成長障害を引き起こしていると考えられた。
- ③低出生体重の家族歴があり、GH 過剰分泌を示し、IGF-I 値が正常以上を示す低身長患者は、IGF-IR 遺伝子異常の可能性はある。

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 28 件)

- ① Kawashima Y, Hanaki K, Kanzaki S (他 6 名、9 番目). Novel missense mutation in the IGF-I receptor L2 domain results in intrauterine and postnatal growth retardation. *Clinical Endocrinology (Oxf)*, 査読有、印刷中
DOI: 10.1111/j.1365-2265.2012.04357.x
- ② Kawashima Y, Takahashi S, Kanzaki S. Familial short stature with IGF-I receptor gene anomaly. *Endocrine Journal* 査読有 2012;59(3):179-85.
DOI.org/10.1507/endocrj.EJ11-0258
- ③ Fukami M, Hanaki K, Kanzaki S,. (他 12 名、8 番目). Aromatase excess syndrome: identification of cryptic duplications and deletions leading to gain of function of CYP19A1 and assessment of phenotypic determinants. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 査読有、96(6): E1035-43, 2011.
DOI: 10.1210/jc.2011-0145
- ④ 花木啓一, 宮原直樹, 西村玲, 鞆嶋有紀, 長石純一, 神崎晋, 奇形症候群と低身長 Prader-Willi 症候群と Noonan 症候群を中心に。小児内科、査読無, 42(4): 587-591, 2010.
- ⑤ 神崎晋, 鞆嶋有紀, 西村玲, 長石純一, 花木啓一, IGF-1/IGF-I 受容体異常による低身長 実験医学、査読無, 27(19): 3165-3171, 2009.
<http://mol.medicalonline.jp/library/journal/download?GoodsID=ai4jigkb/2009/002719/017&name=3165-3171j&UserID=160.15.13.190>

[学会発表] (計 30 件)

- ① Kanzaki S, The Safety of two different GH dosages administered for five years in short Japanese children born small for gestational age. The Endocrine Society's 93rd Annual Meeting 2011年 6 月 4-7 日、Boston Convention & Exhibition Center (Boston, USA)
- ② Nishimura R, Novel compound heterozygous mutations of insulin receptor found in Leprechaunism: Case report. The Endocrine Society's 93rd Annual Meeting. 2011年 6 月 4-7 日、Boston Convention & Exhibition Center (Boston, USA)
- ③ Kanzaki S, IGF systems and its disorder: IGF-I receptor mutations. (KSPE/JSPE lecture). 30th biannual meeting of Korean Society of Pediatric Endocrinology. 2011年 5 月 20 日、Gyeongyu Hilton Hotel. (Gyeongyu, Korea)
- ④ Kawashima Y, Mutated IGF-I Receptor (D1105E) extinguish autophosphorylation: A family of short stature born intrauterine growth retardation bearing a novel missense mutation of the IGF I receptor. The Endocrine Society's 92nd Annual Meeting. 2010年 6 月 19-22 日、San Diego Convention Center (San Diego, USA)
- ⑤ 鞆嶋有紀, IGF-I 受容体内在化低下により SGA 性低身長を呈した IGF-I 受容体遺伝子異常症の I 家系、第 113 回日本小児科学会学術集会、2010年 4 月 25 日、盛岡市民文化ホール (盛岡)
- ⑥ Kawashima Y, SGA short stature with IGF-I receptor mutation. 14th International Congress of Endocrinology、2010年 3 月 30 日、京都国際会議場 (京都)

[図書] (計 5 件)

- ① 神崎 晋, 医学書院、今日の診断指針第 6 版、2010、1906-1908
- ② 神崎 晋, 診断と治療社、小児臨床栄養学、2010、2-5
- ③ 神崎 晋, 医学書院、標準小児科学第 7 版、2010、232-236、259-264
- ④ 神崎 晋, 診断と治療社、小児内分泌学、2009、3-8

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神崎 晋 (KANZAKI SUSUMU)
鳥取大学・医学部・教授
研究者番号：90224873

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

長田 郁夫 (NAGATA IKUO)
鳥取大学・医学部・准教授
研究者番号：50252846

花木 啓一 (HANAKI KEIICHI)
鳥取大学・医学部・教授
研究者番号：20238041

鞆嶋 有紀 (KAWASHIMA YUKI)
鳥取大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：20403412
(平成 23 年度)

岡田 晋一 (OKADA SHIN-ICHI)
鳥取大学・医学部・講師
研究者番号：50343281

長石 純一 (NAGAISHI JUN-ICHI)
鳥取大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：90346354
(平成 21～22 年度)