

## 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 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790967

研究課題名（和文） Kenny-Caffey 症候群 2 型の原因遺伝子の同定

研究課題名（英文） Exploring for the causative gene of Kenny-Caffey syndrome type 2

研究代表者

磯島 豪 (ISOJIMA TSUYOSHI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00568230

研究成果の概要（和文）：Kenny-Caffey 症候群(KCS)は、著明な低身長、副甲状腺機能低下症、長管骨の骨膜肥厚と髄質の狭小化、大泉門の開大と閉鎖遅延、目の異常を伴う症候群である。これまで日本で報告のあった KCS2 型の全 4 例の患者および健常家族から同意を取得して、末梢血検体（患者 4 例とその健常家族 9 例の合計 13 検体）を取得した。症例 4 例について KCS1 型の原因遺伝子である *TBCE* 遺伝子について直接シーケンス法を行い、変異のないことを確認した。次に、13 検体のエクソームシーケンス解析を施行した。*MUC4*(NM\_018406)、*PRR21*(NM\_001080835)、*FAM111A*(NM\_001142521)などが原因遺伝子候補に挙げられたが、エクソームシーケンスで変異が同定されやすい遺伝子であったため、原因とは考えにくかった。

研究成果の概要（英文）：The major features of Kenny-Caffey syndrome are proportionate short stature, cortical thickening and medullary stenosis of the tubular bones, delayed closure of anterior fontanel, eye abnormalities, and transient hypocalcemia. We explored for the causative gene of this syndrome. We gathered all Japanese patients reported in the literatures, and collected 13 peripheral lymphocyte samples of all four patients and their family members, and obtained genome DNA with informed consent. We performed exome sequences of these samples, but unfortunately we could not detect the causative gene.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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

Kenny-Caffey 症候群(KCS)は、著明な低身長、副甲状腺機能低下症、長管骨の骨膜肥厚と髄質の狭小化、大泉門の開大と閉鎖遅延、目の異常を伴う症候群である。新生児期から

低カルシウム血症によりけいれんを起こし、成長障害を伴うため著明な低身長を呈する。KCS には、1 型と 2 型が存在する。

KCS1 型は、1998 年にクウェートの近親婚の 8 家系の連鎖解析から原因遺伝子が常染色

体 1q42-43 にあることが報告され、2002 年に *TBCE*(tubulin chaperone E) 遺伝子が原因であることが明らかにされた。KCS2 型は、文献上も報告数が少なく、現在のところ、原因遺伝子は同定されていない。日本においても、これまで 4 例の散発例しか報告されておらず、*de novo* の変異による単一遺伝子異常が原因として想定されている。

一方、近年アレイを用いたゲノム解析技術の進歩により、ゲノムワイドに網羅的かつ高精度にゲノム異常を検出することが可能となった。それによりこれまで検出不能であった微細なゲノム異常が疾患原因として同定されている。例えば、乳児てんかん性脳症(太田原症候群)は新生児期から乳児期早期に発症する難治性てんかんであるが、全ゲノム解析により微細欠失が同定され、その領域に存在する *STXBPI* が原因遺伝子であることが判明した。このような手法を用いた解析により、重度のてんかん性脳症の原因遺伝子が明らかになったばかりでなく、シナプス小胞の開口放出障害という新しいてんかん発症機構の提唱につながった。また、検体が集まりにくい稀少疾患においても、正常者を含む家系全体の全ゲノム解析により、その原因遺伝子を同定することが可能である。一例として、中枢性性腺機能低下症は、視床下部-下垂体からの性腺刺激ホルモン分泌の低下により生下時の外生殖器異常や二次性徴の欠如をきたす疾患であるが、その原因遺伝子 *TAC3*、*TAC3R* の同定は、わずか 1-2 家系を用いた全ゲノム解析によって行われた。このように、ゲノムワイド解析の技術を用いることにより、これまで同定が困難であった疾患原因遺伝子が次々と明らかにされつつある。

## 2. 研究の目的

本研究では、まだ原因遺伝子が同定されていない KCS 2 型の原因遺伝子を同定することを目的として同様の解析を含めた研究を行った。KCS2 型の家系を用いて、候補遺伝子解析、ゲノムワイド解析、さらには次世代シーケンサーを用いたハイスループットゲノム解析を行うことにより、本症候群の原因遺伝子の同定を試みる。原因遺伝子が同定されれば、本症候群の発症機構が明らかになるばかりでなく、*TBCE* 遺伝子との関連による遺伝子ネットワークの解明、さらには、新規治療法の開発につながると考えていた。

## 3. 研究の方法

最初に、これまで日本で報告のあった全 4 例の主治医と連絡をとり、本研究への協力を依頼して、患者および健常家族(両親およ

び同胞)から、同意を取得して、貴重な末梢血検体を収集した。その結果、KCS2 型罹患している全 4 例とその健常家族(両親および同胞)9 例の合わせて 13 検体を取得した。症例 4 例については、KCS1 型の原因遺伝子である *TBCE* 遺伝子について直接シーケンス法を行い、変異のないことを確認し、KCS1 型ではないことの確認を行った。今回収集した 13 検体東京大学ゲノム医学センターにて、エクソームシーケンス解析を施行した。

解析結果から、これまで報告があったり、データベース上明らかな一塩基多型と考えられる変異を除き、可能性のある *de novo* の変異を抽出した。抽出した変異について児には同定され、健常家族には同定されなかった変異について候補遺伝子として抽出した。

## 4. 研究成果

症例 4 例とその家族 9 例の合計 13 例のエクソームシーケンス解析の結果を示す。

	変異総数	未知の変異数	De novo 変異の可能性のある変異数
患者①	10,381	279	82
父①	10,457	275	
母①	10,691	275	
患者②	10,341	302	89
父②	10,025	281	
母②	10,302	288	
兄②	10,261	269	
弟②	10,218	297	118
患者③	10,306	312	
父③	10,132	308	
母③	9,750	283	
弟③	10,576	306	249
患者④	9,759	249	

表は、同定された変異の中から、既知で今回の検討とは関係ないと考えられる変異を除いたものが、表に示した de novo と考えられる変異数である。残念ながら、4 家系に共通する同じ遺伝子の変異は存在しなかった。そこで、候補遺伝子として、患者に変異の多かった遺伝子を列挙してみたところ、下記の表のような結果になった。

Coding gene	患者での変異数
MUC4 (NM_018406)	6
PRR21 (NM_001080835)	4
FAM111A (NM_001142521)	4
MLL3 (NM_170606)	3
DNAH10 (NM_207437)	3
ADAMTS7 (NM_014272)	3
ALPP (NM_001632)	3
C13orf35 (NM_207440)	2
KCNH6 (NM_030779)	2
PLRG1 (NM_002669)	2
PLEC (NM_201384)	2
NMI (NM_004688)	2
UNC13D (NM_199242)	2
SHISA7 (NM_001145176)	2
BCORL1 (NM_021946)	2
FES (NM_001143785)	2
SACM1L (NM_014016)	2
HYAL3 (NM_001200029)	2
TRIM26 (NM_001242783)	2
TMEM161A (NM_017814)	2
NOTCH1 (NM_017617)	2
NOTCH4 (NM_004557)	2
TAS2R30 (NM_001097643)	2
TAF1C (NM_001243156)	2
GOLIM4 (NM_014498)	2
OBSCN (NM_001098623)	2
FLT1 (NM_002019)	2
LRIG1 (NM_015541)	2
MBD3L5 (NM_001136507)	2
AP1B1 (NM_001166019)	2
ZNF335 (NM_022095)	2
DSCAM (NM_001389)	2
KRTAP10-6 (NM_198688)	2
ACADSB (NM_001609)	2
WDR90 (NM_145294)	2
PSMB10 (NM_002801)	2
KRR1 (NM_007043)	2
DNAH11 (NM_003777)	2

患者での変異数の多い MUC4 (NM\_018406)、PRR21 (NM\_001080835)、FAM111A (NM\_001080835) などが原因遺伝子の候補としてあげられるが、これらの遺伝子は、エクソームシーケンスでよく変異が抽出される遺伝子であり原因とは考えにくかった。

そこで、これまで KCS は優性遺伝すると考えられているが、劣性遺伝すると仮定して、検出された変異について上記の de novo の変異のある遺伝子について候補遺伝子について各家系で検討したところ、家系①では、ADAMTS7, DHX34, MUC4, TAF1C, TTN 遺伝子が、家系②では TRIM7, RYR3, DCAF15, SHISA7, APOBEC3H 遺伝子が、家系③では LRP1B, MUC4, DNAH10, IL4R, ATP8B3 遺伝子が、家系④ NMI, MUC4, MLL3, KRR1, WDR90, ZNF335, AP1B1 遺伝子が原因遺伝子候補として考えられた。しかしながら、4 家系で共通するものがなく、優性遺伝形式と考えた場合に同定された遺伝子と同様に、原因と考えられる遺伝子は存在しなかった。

研究期間内での原因特定は達成できなかったが、今後はエクソームシーケンスの詳細なデータを確認して機能的に似た遺伝子の変異を調べるとともに、エクソームシーケンスの coverage が 6 割弱であるため、エクソームシーケンスで読めていない場所に原因がある可能性も考え、全ゲノム解析を考慮している。

## 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 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

特記事項なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

磯島 豪 (ISOJIMA TSUYOSHI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00568230

### (2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

北中 幸子 (KITANAKA SACHIKO)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：30431638