

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791042

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000 円、(間接経費) 990,000 円

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など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末梢血検体を取得し、エクソーム解析を行った。新しく原因同定のためのパイプラインを構築しなおして解析したところ、以前の研究で候補に挙げたFAM111Aが原因遺伝子と考えられた。さらに、患者全員にR569Hという同じ変異をde novoに同定し、KCS2型のホットスポット変異であることを示した。ほぼ同時期に他のグループから同様の報告があり、FAM111AがKCS2型の原因遺伝子であることが確定した。

研究成果の概要(英文)：The major features of Kenny-Caffey syndrome (KCS) are proportionate short stature, cortical thickening and medullary stenosis of the tubular bones, eye abnormalities, and transient hypocalcemia. This syndrome is classified to two types by their inheritance patterns. The recessive type is KCS type 1, and the dominant type is type 2.

We explored for the causative gene for KCS type 2. 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, and found only one possible responsible gene, FAM111A with the newly established pipeline for detection of de novo causative genes. Around the same time, another independent research group from Switzerland reported similar findings. These two independent studies confirmed that a recurrent de novo mutation of FAM111A causes KCS type 2.

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：先天性奇形症候群

## 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、遺伝形式により1型と2型に分類される

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STXBP1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性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KCS2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シング法を行い、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シング解析を施行した。

解析結果から候補遺伝子の抽出を試みたが、平成23年度の研究では、原因遺伝子の同定することは出来なかった。そこで新たに図1のようなパイプラインを構築してde novoの変異による疾患の原因遺伝子の同定を行った。

## 4. 研究成果

図1のパイプラインによる原因遺伝子の同定を行ったところ、FAM111Aが原因遺伝子として同定された(図2)。FAM111Aは、平成23年度までの研究でも候補に挙がっていたが、機能が不明であることや他にもいくつかの候補遺伝子が存在することから、原因遺伝子同定までには至っていなかった。今回新たなde novoの遺伝子変異による疾患原因遺伝子同定のパイプライン(図1)を作成したことにより、1つの原因候補遺伝子に絞ることが出来た。しかしながら、機能が不明なため、FAM111A遺伝子がKCS2型の原因遺伝子とは言い切れなかった。投稿準備している最中に、私どもと全く独立したスイスのグループから同様の結果の報告があり、私どもの報告と合わせて、FAM111AがKCS2型の原因遺伝子として確定した。さらに、患者4人全てに、R569Hという同じde novo変異がサンガ-法で確認され、これがKCS2型のホットスポット変異であることが判明した(図3)。また、症例の症状を蓄積する中で、KCS2型の特徴的な症状としてこれまであまり報告されていない低マグネシウム血症があることを見出した。

FAM111Aの生体内における機能はほとんど分かっておらず、KCS2型の原因遺伝子として同定されたことで、FAM111Aが骨の成長や副甲状腺の形成などで非常に重要な役割をしていることが示唆された。

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 1 件)  
Isojima T, Doi K, Mitsui J, Oda Y, Tokuhiko E, Yasoda A, Yorifuji T, Horikawa R, Yoshimura J, Ishiura H, Morishita S, Tsuji S, Kitanaka S. A recurrent de novo FAM111A mutation causes Kenny-Caffey syndrome type2. J Bone Miner Res 2014 ; 29:992-8

- 〔学会発表〕(計 2 件)
- 磯島豪, 土井晃一郎, 三井純, 小田洋一郎, 徳弘悦郎, 八十田明宏, 依藤亨, 堀川玲子, 吉村淳, 石浦浩之, 森下真一, 辻省次, 北中幸子: 次世代シーケンサーを用いた Kenny-Caffey 症候群(KCS)2 型の原因遺伝子の同定. 第 47 回日本小児内分泌学会学術集会, 東京, 2013 年 10 月 10 日 ~ 12 日
  - 磯島豪, 土井晃一郎, 三井純, 小田洋一郎, 徳弘悦郎, 八十田明宏, 依藤亨, 堀川玲子, 吉村淳, 石浦浩之, 森下真一, 辻省次, 北中幸子: 次世代シーケンサーを用いた Kenny-Caffey 症候群(KCS)2 型の原因遺伝子の同定. 第 58 回日本人類遺伝学会, 仙台, 2013 年 11 月 20 日 ~ 23 日

〔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〕  
 ホームページ等  
 無し

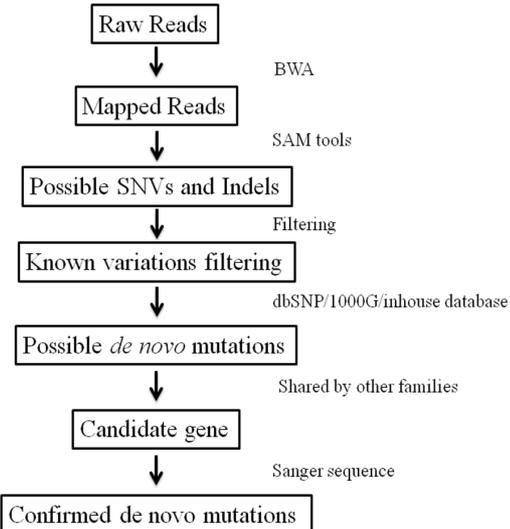
6. 研究組織  
 (1) 研究代表者  
 磯島 豪 (ISOJIMA TSUYOSHI)  
 東京大学・医学部附属病院・助教  
 研究者番号 : 00568230

(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

図 1 : de novo の遺伝子変異による疾患原因遺伝子同定のために新たに構築したパイプライン



新しく構築したパイプラインを用いて候補遺伝子の同定を行った

図 2 : 候補遺伝子の同定

Pedigree 1						Pedigree 2					
chr	pos	ref	alt	dbSNP	gene	chr	pos	ref	alt	dbSNP	gene
11	58920847	G	A	無	FAM111A	2	240981541	G	C	無	PRR21
14	20181274	T	C	無	OR11H2	2	240981583	C	A	無	PRR21
17	3807280	C	T	無	P2RX1	2	240981795	A	G	無	PRR21
19	12542653	T	G	有	ZNF443	11	58920847	G	A	無	FAM111A
19	12542654	T	A	有	ZNF443	11	72408055	G	C	有	ARAP1

Pedigree 3					
chr	pos	ref	alt	dbSNP	gene
1	230931020	C	G	無*	CAPN9
2	219602499	G	C	有	TTL4
3	124281844	C	A	有	KALRN
4	190904030	T	C	有	TUBB4Q
11	58920847	G	A	無	FAM111A
14	103426014	A	G	無	CDC42BPB

共通するのはFAM111Aのみ

\* Exome sequencing projectには有

候補遺伝子として残ったのは FAM111A のみであった。

図 3：解析した 4 家系のサンガ-法による FAM111 遺伝子の解析

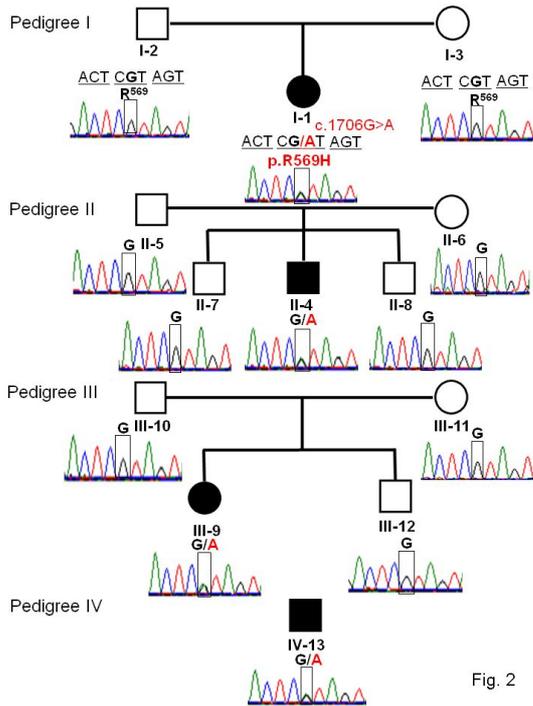


Fig. 2

サンガ-法にて、患者および健常家族の FAM111A 遺伝子解析を行ったところ、全ての患者に R569H という de novo 変異が同定された。