

## 成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発

所属 国立成育医療センター研究所, 小児思春期発育研究部

研究者 緒方勤

研究要旨 ヒト成長遺伝子 SHOX の発現調節領域を SHOX 3'領域に局限しえた。精巣摘出雄ラットと卵巣摘出雌ラットの成長パターン比較により、性ステロイド非依存性の Y 成長遺伝子の存在が示された。低身長同胞例において成長ホルモン遺伝子変異解析を終了し、ヘテロ変異は認められなかった。

### 分担研究者

国立成育医療センター遺伝診療科 奥山虎之

岡山大学医学部歯学部小児科 山中良孝

日本ケミカルリサーチ株式会社研究センター鈴木徹

株式会社エスアルエル遺伝子・染色体解析センター 引地一昌

### A. 研究目的

成長障害は、一般集団の 2.3% に認められる極めて頻度の高い病態で、その原因は、骨系統疾患、内分泌疾患、染色体異常症など多様である。しかし、大多数の成長障害は、原因不明の特発性低身長と診断され、有効な治療法は存在しない。本研究の目的は、ヒト成長遺伝子 SHOX 導入マウスの成長解析、胎児期後期・乳児期の成長機序の原因解明、低身長児における包括的遺伝子・染色体異常スクリーニングにより、成長制御機構を解明し、成長障害治療法を開発することである。

### B. 研究方法

ヒト成長遺伝子 SHOX 導入マウスの成長解析：Langer 中肢骨短縮症と診断された 1 歳 6 カ月の女兒と Leri-Weill 軟骨骨異形成症と診断された母親、および、正常表現型を対象として、SHOX 発現調節領域の同定を行った。

胎児期後期・乳児期の成長機序の原因解明：性腺摘出ラットの成長パターンを解析し、成長パターンの雌雄差の原因解析を行った。

低身長児における包括的遺伝子・染色体異常スクリーニング：特発性低身長同胞例 35 家系において成長ホルモン遺伝子の全コード領域を直接塩基配列法で解析した。

(倫理面への配慮) 本研究は成育医療センター倫理委員会の承認のもとに行われ、個人情報管理は三省指針を順守して行われた。また、動物実験は、“開発研究所・バイオサイエンス研究所動物実験の実施に関する規定”に従って施行された。

### C. 研究成果

ヒト成長遺伝子 SHOX 導入マウスの成長解析：核型は、女兒 45,X[191]/46,X,r(X)(p22.3q24)[9]、母親 46,XX、父親 46,XY であった。SHOX 3'領域の解析により、女兒において、rs5946324 と rs5988437 およ

び rs4468091 と RH65317 の間に切断点と有する微小欠失が同定された。この微小欠失は、SHOX 蛋白コード領域か約 200 kb 離れた部位から始まり、240-350 kb のサイズであった。さらに、この欠失領域のゲノム配列を認識するプローブ (RP11-309M23) を用いた FISH 解析により、母親の 1 個の X 染色体においても微小欠失が確認された。父親では、欠失は認められなかった。

胎児期後期・乳児期の成長機序の原因解明：精巣摘出雄ラットと卵巣摘出雌ラットの口吻-尾根長には、生後 47 日めから有意差が認められた。同様に、精巣摘出雄ラットと卵巣摘出雌ラットの口吻-尾端長には、生後 47 日めから有意差が認められた。内分泌データは、両軍艦データ同等であった。

低身長児における包括的遺伝子・染色体異常スクリーニング：成長ホルモン遺伝子のヘテロ変異は全症例において認められなかった。しかし、アミノ酸置換を伴う多型の頻度が Hardy-Weineberg 平衡から逸脱するずれを示したことから、正常集団においてこの多型頻度を検討中である。

### D. 考察

ヒト成長遺伝子 SHOX 導入マウスの成長解析：以上の成績は、SHOX 遺伝子発現調節にかかわるエンハンサーが、この微小欠失に存在することを示唆するものである。このエンハンサー領域の同定は、SHOX 遺伝子導入マウス作製の基礎的データとなるのみならず、発現調節異常症という概念を提唱するものである。

胎児期後期・乳児期の成長機序の原因解明：精巣摘出雄ラットと卵巣摘出雌ラットの比較は、性腺ステロイドが共に存在しないことから、Y 成長遺伝子の効果を観察モデルとなる、さらに、この両者間において、内分泌データが同等であったことは、この概念を支持する。そして、両者間において有意の体長差が認められたことは、Y 成長遺伝子が、ラットの成長にも関与することを示唆する所見である。

低身長児における包括的遺伝子・染色体異常スクリーニング：成長ホルモン遺伝子に変異は認められなかった。これは、この遺伝子のヘテロ頻度が低いことを示唆する。しかし、この様なアプローチは、現行の成長ホルモン治療の評価にも直結する。すなわち、成長ホルモン治療は特発性低身長にたいし広く行われているがその効果は様々であり、反応良好者と反応不良者が混在する。この反応性の差異は、個人の遺伝的背景に起因すると考えられ、成長ホルモン遺伝子のヘテロ変異患者では良好で、成長ホルモン受容体遺伝子のヘテロ変異では不良であると推測される。これは次年度のテーマである。

#### F. 研究発表

1. Fukami M, Okuyama T, Yamamori S, Nishimura G, Ogata T. Microdeletion in the SHOX 3' Region Associated With Skeletal Phenotypes of Langer Mesomelic Dysplasia in a 45,X/46,X,r(X) Infant and Leri-Weill Dyschondrosteosis in her 46,XX Mother. Am J Med Genet (in press).
2. Ogata T, Fukami M. Clinical features in SHOX haploinsufficiency: diagnostic and therapeutic

#### E. 結論

本年度の腫瘍成果は、以下のように集約される。ヒト成長遺伝子 SHOX の発現調節領域を SHOX 3' 領域に局限しえた。精巣摘出雄ラットと卵巣摘出雌ラットの成長パターン比較により、性ステロイド非依存性の Y 成長遺伝子が存在することが示された。低身長同胞例において成長ホルモン遺伝子変異解析を終了し、ヘテロ変異は認められなかった。

implications. Growth, Genetics & Hormones 20 (2): 17-23, 2004.

3. Fukami M, Nishi Y, Hasegawa Y, Miyoshi Y, Okabe T, Haga N, Nagai T, Tanaka T, Ogata T. Statural growth in 31 Japanese patients with SHOX haploinsufficiency: support for a disadvantageous effect of gonadal estrogens. Endocrine Journal 51 (2): 197-200, 2004.