

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書（I）

目 次

課題番号		
KH11001	バイオフィotonicsを利用した細胞組織障害を視る、測る、解析する技術の開発	川西 徹 …… 1
KH11002	成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発	緒方 勤 …… 16
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 …… 21
KH21004	動脈硬化症と血栓症にかかわるスフィンゴシン1-リン酸 (S1P) 受容体 (S1P3) の拮抗薬の開発	望月直樹 …… 30
KH21005	遺伝子改変動物を用いた病態関連因子の解明と創薬への応用に関する研究	田上昭人 …… 40
KH21006	病態時の侵害情報伝達に関与するプリン受容体の機能解明	井上和秀 …… 100
KH21007	蛋白立体構造異常を原因とするコンフォメーション病に対する病態解明と創薬探索システムの確立	桃井 隆 …… 126
KH21008	高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索	小川誠司 …… 144
KH21009	脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用	花田賢太郎 …… 154
KH21010	繊維芽細胞の放出するmacrophage活性化因子とJAG1蛋白の関連と臓器繊維化の機序解明	香坂隆夫 …… 168
KH21011	血管におけるレクチンを介する生体防御システムの解明と創薬への応用	若宮伸隆 …… 181
KH21012	コネキシン遺伝子の癌抑制機能の網羅的解析；癌予防および治療への応用	矢野友啓 …… 196
KH21013	免疫グロブリン大量静注療法的作用機序解明と新しい治療標的分子の探索	阿部 淳 …… 208
KH21014	受精および初期胚発生における糖鎖の役割解析とその応用に関する研究	藤本純一郎 …… 221
KH21015	細胞内エネルギー代謝制御分子の機能発現機構の解明と新規治療薬への応用	江崎 治 …… 235
KH21018	アルツハイマー病における新規創薬ターゲット検索のための、APP細胞内ドメインの機能解析	中山耕造 …… 247
KH21019	創薬への応用を目標としたB細胞の分化・増殖・細胞死の制御機構解明に関する研究	上出利光 …… 262
KH21021	エンドトキシン認識・刺激伝達機構の解明と医療への応用に関する研究	西島正弘 …… 286
KH21022	ウイルスRNA結合ペプチドを用いたC型肝炎治療薬の開発	鈴木哲朗 …… 300
KH21023	末梢血幹細胞の分化増殖機構の解明と創薬への応用に関する研究	葛西正孝 …… 310
KH21101	DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究	佐藤準一 …… 318

KH22073	機能性精神疾患のハイスループットSNPs解析と機能解析による創薬標的分子の解明	功 刀 浩 …… 344
KH31024	超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立	吉岡澄江 …… 358
KH31025	生薬及び漢方処方of科学的品質保証に関する研究	合田幸広 …… 373
KH31026	食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究	工藤由起子 …… 390
KH31027	ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築	能美健彦 …… 402
KH31028	ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用ー非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立ー	吉里勝利 …… 417
KH31029	高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究	檜山行雄 …… 435
KH31030	患者個別化薬物治療のための遺伝子タイピング法及びメタボロミクス的手法の開発に関する研究	斎藤嘉朗 …… 449
KH31031	細胞医療に用いられる細胞組織利用医薬品の品質・安全性評価技術の開発	山口照英 …… 466
KH31032	医薬品等の有効性・安全性を保証するための分析・解析技術の評価と標準化に関する研究	林 讓 …… 481
KH31034	プロテオミクス及び構造生物学的アプローチ等を用いたバイオ医薬品の特性解析・品質評価技術の開発	川崎ナナ …… 494
KH31035	生物由来製品のウイルス安全性に関する基盤研究	内田恵理子 …… 509
KH31036	臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための基盤研究	東 純一 …… 525
KH32074	IT技術を用いた低コストかつ高品質な大規模臨床試験実施基盤の構築	永井洋士 …… 537
KH41037	抗フリーラジカル療法を目指した基盤研究と創薬への応用	綱脇祥子 …… 551
KH41038	ボツリヌス神経毒素有効成分を利用したジストニア・痙縮等の治療法の確立と筋萎縮性側索硬化症に対するdrug delivery systemの開発	梶 龍兒 …… 566
KH42075	熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究	名和行文 …… 576

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'領域の 800 bp に限局しえた。また、SHOX 遺伝子導入マウスを作製しえた。特発性低身長においては、成長ホルモン受容体のプロモーター多型に優位の相関は認められなかった。現在、罹患同胞対を用いて文献に報告された座位を解析中である。子宮内発育不全では、シルバーラッセル症候群 52 例を含む 72 例の解析を行い、3 例で第 7 染色体母親性ダイソミーが、16 例で H19-DMR の低メチル化が同定された。そして、臨床症状が判明した全例において胎盤低形成が判明した。

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 田中弘之
日本ケミカルリサーチ株式会社研究センター鈴木徹
株式会社エスアールエル遺伝子・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：対象は、典型的な Leri-Weill 軟骨骨異形成症を有する 3 家系である。全てにおいて、染色体異常や SHOX の欠失/変異は認められていない。3'領域を主に計 30 以上の座位にたいする FISH (fluorescence in situ hybridization) 解析、マイクロサテライト解析、SHOX 変異解析、PCR 欠失解析を行った。その後、in silico 解析で進化上保存されている領域を検出し、ルンペラーゼ活性解析でエンハンサー領域を同定した。また、SHOX cDNA は全長を合成することで作製した。これを発現ベクターに組み込み、遺伝子導入を行った。

胎児期後期・乳児期の成長機序の原因解明：子宮内発育不全患者 72 例 (52 例は相対的な頭圍拡大、左右不对称、第 5 指屈曲短縮などで特徴づけられシルバーラッセル症候群) において、第 7 染色体母親性ダイソミーと H19-DMR とのメチル化解析を行った。

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：低身長 [-2SD 以下] 同胞例が存在する

52 家系と正常身長者 50 例である。相関解析は、成長ホルモン受容体プロモーターの rs4314405 にたいし行った。ゲノムワイドアプローチは、LOD スコア 3 以上が報告されている 6 座位に対してマイクロサテライト解析で行った。

(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、個人情報の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：3 家系において SHOX 3'領域の欠失が検出された。その共通欠失領域は約 39 kb で、この領域には、進化上保存された配列が複数存在し、その中の 800 bp から成る 1 つのみが、SHOX promoter との組み合わせで有意の活性亢進効果を有することが見いだされた。また、現在 5 ラインの SHOX 導入が確認されたマウス系統が確立された。現在、発現量を解析中である。

胎児期後期・乳児期の成長機序の原因解明：シルバーラッセル症候群の患者 52 例中 3 例で第 7 染色体母親性ダイソミーが、16 例で H19-DMR の低メチル化が見出された。臨床症状の解析から、詳細が判明した全例において胎盤形成不全が見出された。

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：成長ホルモン受容体プロモーターの rs4314405 G アリル頻度は、正常者 14%、低身長患者 12% で同等であった。ゲノムワイドアプローチは、D6S1007、D6S2436、D7S2439、D7S2195、:D12S398、D12S1091、D13S779、D13S797 にたいして終了し、遺伝統計学的解析を開始した。

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、800 bp 領域に存在することを示唆するものである。この成績は、エンハンサーが遺伝子から 10-1,000 kb 離れた部位に存在するという報告に一致する。このエンハンサーの同定は、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しうるものである。SHOX 遺伝子導入マウス作製は、性腺抑制両方と組み合わせた新規治療法の可能性を開く。

胎児期後期・乳児期の成長機序の原因解明：インプリンティング遺伝子が必須である胎盤発育の障害が胎児期そして生後の成長障害を招く可能性を世界で初めて示唆するデータである。

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：今回、特発性低身長において機能変動が *in vitro* で知られている成長ホルモン受容体プロモーターの rs4314405 は、感受性因子とはみなされなかった。しかし、このようなアプローチは、一般

F. 研究発表

I. Fukami M, Kato F, Tajima T, Yokoya S, Ogata T.
Transactivation function of a ~800 bp evolutionally conserved sequence at the SHOX 3' region: implication for the downstream enhancer. *American Journal of Human Genetics* 2006;78:167-170.

特許

1. エストロゲン受容体 α 遺伝子におけるハプロタイプブロックの同定および特定ハプロタイプによる男児外陰部異常症発症感受性亢進

的に有効であり、特発性低身長の場合、成長ホルモン効果が、受容体機能に依存することから、成長ホルモンに良好に反応する低身長と反応しない低身長を同定できる可能性がある。また、ゲノムワイドアプローチは、終了していないが、未知の遺伝子を同定しうる手法である。

E. 結論

本年度の成果は、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' 領域の 800 bp に限局しえた。また、SHOX 遺伝子導入マウスを作製しえた。特発性低身長においては、成長ホルモン受容体のプロモーター多型に優位の相関は認められなかった。現在、罹患同胞対を用いて文献に報告された座位を解析中である。子宮内発育不全では、シルバーラッセル症候群 52 例を含む 72 例の解析を行い、3 例で第 7 染色体母親性ダイソミーが、16 例で H19-DMR の低メチル化が同定された。そして、臨床症状が判明した全例において胎盤低形成が判明した。

(2004 年 7 月 9 日、国立成育医療センター職務発明認定) 2004 年 8 月 30 日提出 (特願: 2004-250832)

2. 尿道下裂および他のストロゲン依存性疾患発症のリスクとエストロゲン製剤効果の評価法としてのエストロゲン受容体 α 遺伝子の SNP 解析法の開発 (2006 年 4 月 7 日、国立成育医療センター職務発明認定)
3. 新規性分化異常症責任遺伝子 MHX (Cxor6) による Notch リポーター遺伝子転写活性化の同定 (2006 年 4 月 7 日、国立成育医療センター職務発明認定)

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書(Ⅰ)

平成19年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル(小伝馬町駅前)4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社