

小児思春期発育研究部（成長障害研究室、小児代謝病態研究室）

（1）研究目的

小児思春期発育研究部の目的は、小児期・思春期に特有の成長・発達障害の分子遺伝学的解析を行い、その成果を医療に還元することである。特に、成長障害、性分化異常、生殖機能障害、性染色体異常症を主たる研究対象として、疾患原因遺伝子、疾患感受性遺伝子、環境反応性遺伝子、薬剤応答性遺伝子の網羅的解析、および、変異蛋白の機能解析、遺伝子型・表現型解析を行うことに重点を置く。また、これとは別に、ヒト、ラットなどの動物細胞の増殖にとって不可欠な水溶性ビタミンであるビオチン及びリボ酸が、ヒトの各種難病の病態とどのように関連するかについても解析を行う。

（2）研究概要

小児思春期発育研究部では、疾患原因遺伝子解析として、性染色体上に存在する SHOX 遺伝子異常症の表現型の決定と臨床的多様性を招く修飾因子を解明した。また、疾患感受性遺伝子、環境反応性遺伝子、薬剤応答性遺伝子解析として、ミクロペニスにおけるアンドロゲン受容体遺伝子多型、5 α 還元酵素 2 型遺伝子多型、ダイオキシン関連遺伝子多型、エストロゲン受容体遺伝子ハプロタイプ解析などを行い、個々の遺伝子多型の関与を明確にした。

成長障害研究室では、（1）成長ホルモン-インスリン様成長因子系の調節機構と、その破綻の分子基盤について、基礎研究・小児臨床検体解析を通じて解明し、成長ホルモン-インスリン様成長因子系の破綻による成長障害の診断と治療に貢献することを目的とした研究、（2）非内分泌性低身長症の代表的疾患である骨系統疾患の診断と新規治療法の開発を目的とした研究、（3）ゴナドトロピン-性腺系の調節機構と、その破綻の分子基盤について、基礎研究・小児臨床検体解析を通じて解明し、ゴナドトロピン-性腺系の破綻による性分化・性発育異常の診断と治療に貢献することを目的とした研究、（4）副腎皮質刺激ホルモン-副腎系の調節機構と、その破綻の分子基盤について、基礎研究・小児臨床検体解析を通じて解明し、副腎皮質刺激ホルモン-副腎系の破綻による副腎不全、性分化・性発育異常の診断と治療に貢献することを目的とした研究、の4つのテーマを大きな柱として研究を行っている。今年度は、特に成長ホルモン-インスリン様成長因子系の分子基盤、副腎皮質刺激ホルモン-副腎系の分子基盤について、研究を重点的に進めた。

小児代謝病態研究室では、ビオチニダーゼ、及びリポアミダーゼについての研究を遂行した。酵素反応の4つの動力学定数の決定法（蛋白定量法の確立が先決問題であったが、開発に成功した）を、ラット組織にて確立した。さらに、測定法を、ヒト肝臓癌の研究に応用している。肝臓癌部とその周りの正常部との比較研究から、癌部では、 K_i 値（競争阻害定数；産物阻害定数ともいえるが）が正常部酵素に比べ大きくなっていることを明らかにした（オートプシー5 肝臓、バイオプシー4 名； $n=9$ ；18 検体：Mann-Whitney U test で有意、 $p<0.01$ ）。この知見を応用して、糖鎖試薬による癌治療法の確立を目指している。

（3）研究成果

成長障害

- 擬常染色体領域の成長遺伝子 SHOX (short stature homeobox containing gene) の半量不全が、性腺エストロゲンの骨成熟作用および拡張リンパ管の骨圧迫作用のもとで、低身長のみならずターナー骨格徴候全般を招くことを見いだした。
- 奇形症候群であるシルバー・ラッセル症候群における父性刷り込み遺伝子 GRB10 変異、および、ヌ・ナン症候群における PTPN11 変異を同定した。
- 骨系統疾患である耳・口蓋・指趾症候群における膜性化骨障害の証明と責任遺伝子の限局化、X連鎖優性型点状軟骨異形成における EBP 遺伝子変異の同定、および、骨幹髄質狭窄・悪性線維性組織球腫の責任遺伝子の限局化と腫瘍組織における同遺伝子領域の LOH の同定を行った。

- (d) 遺伝性成長ホルモン欠損症 2 型の患者で、GH-1 遺伝子の第 3 イントロンに de novo の新規変異 IVS3+6T->G 変異を同定した。変異 GH-1 minigene を COS-1 細胞で発現し、スプライシングパターンを検討し、IVS3+6T->G 変異は GH-1 遺伝子の第 3 エクソンをスキップする異常なスプライシングをきたすことを明らかにし、IVS3+6T->G 変異が患者の成長ホルモン欠損症の原因であることを明らかにした。さらに、GH-1 遺伝子の第 4 イントロンに新しい多型 IVS4+18G->T を見だし、家族検索から、IVS3+6T->G 変異は父由来のアレルに新規に生じたことを明らかにした。

性分化異常症

- (a) X 連鎖性滑脳症・精巢形成障害症候群の責任遺伝子 ARX のクローニングを行った。
(b) 外陰部異常症において、アンドロゲン効果に関連する AR と SRD5A2、内分泌攪乱物質作用に関連する ARNT、AHR、AHRR、生殖細胞分化に関連する RBM と DAZ の遺伝子群の変異および多型解析を行い、各遺伝子が疾患原因遺伝子および疾患感受性遺伝子として果たす役割を解析した。また、AR と SRD5A2 の遺伝子多型が、小陰茎にたいする男性ホルモン治療の薬剤反応性規定因子として作用するか否かを検討した。

副腎皮質刺激ホルモン-副腎系

- (a) 先天性副腎リポイド過形成症患者のうち、STAR 遺伝子に変異を同定することができなかった症例でコレステロール側鎖切断酵素 (CYP11A) 遺伝子の解析を行い、複合ヘテロ変異を見いだした。これまでは、コレステロール側鎖切断酵素は妊娠の維持に必要な胎盤におけるプロゲステロン産生に必要なため、CYP11A 遺伝子異常は致死的との説もあったが、必ずしも致死的でないことを明らかにした。変異酵素蛋白の機能解析、変異 CYP11A minigene を用いたスプライシングパターンの検討から、遺伝子型と表現型とに相関があることを明らかにした。
(b) 先天性 17 水酸化酵素欠損症の患者で、CYP17 遺伝子の新規変異を同定した。変異酵素蛋白の機能解析を行い、変異酵素蛋白では 17 水酸化酵素活性と 17,20 リアーゼ活性が完全に損なわれていることを明らかにした。
(c) 先天性 ACTH 不応症に無涙症、アカラシアを合併する Allgrove 症候群の本邦の患者で、AAAS 遺伝子解析を行い、新規の変異を同定した (Endocr J, 49: 49, 2002)。

生殖機能障害

- (a) 無精子症において、AR、SRD5A2、RBM、DAZ の遺伝子群の変異および多型解析を行い、各遺伝子が疾患原因遺伝子および疾患感受性遺伝子として果たす役割を解析した。

蛋白定量法の開発

- (a) 速液体クロマトグラフィーを利用したヒト尿蛋白・ヒト腓液、ヒト胆汁、ねずみ組織の蛋白の定量法を開発した。さらに、ヒト血清蛋白分析法はラットの血清に、ヒト腓液、ヒト胆汁、ねずみ組織の蛋白測定法は、マウス血清、培養細胞の蛋白の測定にそれぞれ、応用できることを示した。
(b) ピオチニダーゼ、リポアミダーゼの 3 つの親和力定数 K_m 、 k_{cat}/K_m (A_{mo} と命名した)、 K_i の決定法を見だし、種々の臓器におけるピオチニダーゼとリポアミダーゼについて検討した。

(4) 研修

セミナー、Dr. Harley V.R. HOW DOES SRY DETERMINE SEX?
大学院生学位研修
専門学校生実習

(5)業績

英文論文30編

1. Kosaki K, Suzuki T, Muroya K, Hasegawa T, Sato S, Mastuo N, Kosaki R, Nagai T, Hasegawa Y, Ogata T. PTPN11 (protein-tyrosine phosphatase, non-receptor-type 11) mutations in seven Japanese patients with Noonan syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2002;87(8):3529-3533.
2. Katsumata N, Ohtake M, Hojo T, Ogawa E, Hara T, Sato N, Tanaka T. Compound heterozygous mutations in the cholesterol side-chain cleavage enzyme gene (CYP11A) cause congenital adrenal insufficiency in humans. J Clin Endocrinol Metab. 2002; 87(8): 3808-3813.
3. Ogata T. SHOX haploinsufficiency: lessons from clinical studies. Curr Opin Endocrinol Diabetes 2002;9(1):13-20.

など

和文総説・著書 20編

国際学会シンポジウム講演6回

1. Ogata T. Genes on the X chromosome: for growth and related phenotypes. In: The 33rd International Symposium on GH and Growth Factors in Endocrinology and Metabolism. April 19-20, 2002, Barcelona, Spain.
2. Ogata T. SHOX nullizygoty, haploinsufficiency, and overdosage: lessons from clinical studies. In: The Third GeNeSIS (Genetic Neuroendocrinology of Short Stature International Study) Investigators Meeting. May 29-June 1, 2002, Prague, Czech Republic.
3. Ogata T, Sasaki G, Hasegawa T. Micropenis and the 5 α -reductase-2 (SRD5A2) gene: mutation and V89L polymorphism analysis in 81 Japanese patients. In: The 48th NIBB (National Institute for Basic Biology) Conference: Molecular Mechanisms of Sex Differentiation. October 18-20, 2002, Okazaki, Japan.

など

国内学会シンポジウム10回

1. 緒方勤. 21世紀の内分泌疾患とゲノムプロジェクト. 第32回日本小児科学会セミナー. 2002年(平成14年)9月8日, 札幌.

など

(6)その他

特許

緒方勤: X染色体連鎖性滑脳症に関連するArx遺伝子変異の検査方法

教育活動

緒方勤: 東京大学大学院医学系研究科非常勤講師; 慶應義塾大学医学部小児科学非常勤講師; 第7回小児内分泌卒後教育セミナー講師

勝又規行: 帝京大学医学部非常勤講師