

氏名	かわしま ゆき 鞆嶋有紀
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第531号
学位授与年月日	平成17年 9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Mutation at cleavage site of insulin-like growth factor receptor in a short stature child born with intrauterine growth retardation (子宮内発育遅延性低身長児に認められた IGF 受容体遺伝子 cleavage site の変異)
学位論文審査委員	(主査) 寺川直樹 (副査) 難波栄二 神崎晋

## 学位論文の内容の要旨

Insulin-like growth factor (IGF)-I, II は 1 型 IGF 受容体 (IGF-IR) を介して様々な細胞の増殖・分化に重要な役割を示す。IGF-IR ノックアウトマウスの報告では、出生体重が標準体重の 45% と報告され、IGF-IR は GH 作用を介した出生後の発育とともに、胎内発育にも大きな役割を果たす。子宮内発育遅延 (IUGR) 児では、その約 15~20% に低身長が持続すると報告されている (IUGR 性低身長)。IUGR 性低身長児の一部では IGF-I の作用不全が示唆されているが、詳細な検討はなされていない。

私達は、*IGF-IR* 遺伝子異常が IUGR 性低身長の原因の一つと考え、IUGR 性低身長児を対象に *IGF-IR* 遺伝子の解析を行った。

### 方法

出生体重が  $-1.5$  SD 以下で、3 歳以降も  $-2.0$  SD 以下の低身長を呈す 24 症例を対象とした。末梢血単核球の DNA を抽出後、*IGF-IR* 遺伝子の全 exon を PCR で増幅後、direct sequence 法で、遺伝子解析を行った。cleavage site に変異を認めた症例の家族内解析は AciI を用いた RFLP 法で行った。

変異 IGF-IR の機能解析は、対象の線維芽細胞と正常男児の線維芽細胞を使用した。① IGF-I 結合能は  $^{125}$ I-IGF-I と様々な濃度の IGF-I を用いた Scatchard 解析で評価した。また、② IGF-IR $\beta$  抗体を用いたウェスタンブロット法 (WB 法) で IGF-IR と proreceptor の発現を評価した。更に、③ IGF-I 添加による IGF-IR のリン酸化、および、④ 様々な濃度の IGF-I と [ $^3$ H] thymidine を添加し、4 時間毎に 20 時間後まで測定し DNA 合成能を評価した。

## 結 果

在胎 40 週、体重 2686g ( $-1.5$  SD)、身長 48cm の IUGR で出生し、5 歳時の身長が 102cm ( $-2.1$  SD) であった 6 歳女児 (症例 1) に、IGF-IR の cleavage site の Arg-Lys-Arg-Arg が Arg-Lys-Glu-Arg に変化する Arg709Gln をヘテロで認めた。症例 1 の母親 [35 歳、在胎 41 週、出生体重 2500g ( $-1.6$  SD) で出生。現在の身長が 143cm ( $-2.9$  SD)] にも同一の変異が確認された (症例 2)。

この変異は、IGF-IR の proreceptor の  $\alpha$ 鎖と  $\beta$ 鎖の切断部位に存在するため、proreceptor が切断されて  $\alpha$ 鎖と  $\beta$ 鎖の四量体からなる IGF-IR への切断障害が想定された。症例 2 の線維芽細胞を用いた抗 IGF-IR $\beta$ 抗体による WB 法では、予想されたように proreceptor の強発現 (正常の  $189 \pm 26\%$ ) と IGF-IR の発現の減弱 (正常の  $63 \pm 12\%$ ) が認められた。また  $^{125}\text{I}$ -IGF-I による Scatchard 解析では、IGF-IR の有意な受容体数の減少と、それに起因する IGF-I 結合能の低下を認めた。さらに、この変異 IGF-IR を有する症例 2 の線維芽細胞は、IGF-I 刺激による IGF-IR のリン酸化がコントロールに比して著明に減少し、IGF-I 添加による DNA 合成能も著明な減少を示した。

## 考 察

IGF-IR の cleavage site の塩基配列は種を超えて保存され、切断に重要な配列と考えられる。インスリン受容体での cleavage site の変異例は、著明なインスリン抵抗性を示している。本研究の結果からも、本変異により、proreceptor から IGF-IR への切断が障害され、IGF-IR の機能低下を招き、胎内発育遅延と低身長を呈した可能性が強い。

Holzenberger らは、*IGF-IR* 遺伝子のヘテロのノックアウトマウスでも  $-2$  SD の低身長を示すと報告しており、本症例に加えて最近報告された *IGF-IR* 遺伝子変異例もヘテロで IUGR 性低身長をきたしたことから、ヘテロ変異でも IUGR 性低身長を呈することが示唆された。また、本研究では IUGR 性低身長児 24 症例中 1 例に変異を認めたことから、同様の頻度で存在する可能性があり、*IGF-IR* 遺伝子異常は IUGR 性低身長の原因の一つと考えられる。

## 結 語

Arg709Gln 変異により、proreceptor から IGF-IR への切断が障害され、IUGR 性低身長をきたすことが示された。本例の発見は IUGR 性低身長の原因解明に寄与する。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、これまで原因不明とされていた IUGR 性低身長児 24 例に *IGF-IR* 遺伝子解析を行い、そのうちの 1 例と、同様に IUGR 性低身長であったその母親に *IGF-IR* 遺伝子の cleavage site に変異を認めた。その患者の線維芽細胞を用いて、IGF-IR の機能解析を行い、*IGF-IR* 遺伝子変異と IUGR 性低身長の関連について検討したものである。その結果、患者の線維芽細胞で

は、proreceptor の強発現と IGF-IR の発現の減弱、IGF-I 結合能の低下、IGF-I 刺激による IGF-IR のリン酸化の低下、さらに IGF-I 添加による DNA 合成能の著明な減少を示し、本変異が IUGR 性低身長の原因となっていることを明らかにした。本論文の内容は、これまで、不明であったヒトにおける *IGF-IR* 遺伝子異常について明らかにするとともに、原因が不明とされていた IUGR 性低身長の病態解明に極めて重要な情報を提供した。よって明らかに学術水準を高めたものと認める。