

学 位 論 文 の 要 旨

学位の種類	博 士	氏 名	長 屋 建
学 位 論 文 題 目			
<p>Paternal allele of <i>IGF2</i> gene haplotype CTG is associated with fetal and placental growth in Japanese (日本人における父親由来アレルのインスリン様成長因子タイプII遺伝子ハプロタイプCTGは胎児胎盤発育に関係がある)</p>			
共 著 者 名			
蒔田芳男、竹田津原野、岡本年男、中村英記、林時仲、藤枝憲二 <i>Pediatric Research</i> 66: 135-139 平成21年8月			
研 究 目 的			
<p>胎児発育は母体因子、胎盤因子、胎児因子に関わり、これらのいずれかが胎児の子宮内発育不全の原因となりうるがそれを同定できることは多くない。 このうち胎児因子においてはインスリン様成長因子 (IGF) がその役割の一つを担っている。 <i>IGF1</i> 遺伝子多型と胎児発育の関係はこれまでに報告がみられる¹⁾。今回我々は用いて <i>IGF2</i> 遺伝子多型が胎児・胎盤発育に影響しうるかハプロタイプ解析を用いて解析することを目的とした。</p>			
材 料 ・ 方 法			
<p>対象：本研究への参加の同意を得られ、当院または森産婦人科病院で出生し先天奇形や合併症なく生後順調に経過した在胎期間35週以上の134名の健常新生児とその母親を対象としてハプロタイプの決定と頻度を検討した。さらに対象を増やし計276名の母子を対象にハプロタイプ解析を行った。</p> <p>方法：データベース (JSNP) から収集した <i>IGF2</i> 遺伝子に存在する11のSNPsを基に3つの tag-SNPs [C-1176T (rs1003484), T-21865C (rs3741211) and A-21111G (rs3741206)] を抽出した。臍帯血及び母体末梢血から抽出したDNAを用いて、これら3つのSNPで構成されるハプロタイプを決定した。また <i>IGF2</i> 遺伝子は、父親由来の刷り込み遺伝子であるため、上記で得られた母子それぞれのハプロタイプから父親由来のハプロタイプを推定し、胎児胎盤発育との関係を検討した。</p> <p>さらにハプロタイプが <i>IGF2</i> 遺伝子のメチル化に影響しているか否かを、はじめの134名の児を対象に <i>H19/IGF-2</i> 領域のCTCF6と <i>H19-DMR</i> 領域においてMassARRAYを用いてメチル化解析した。</p>			

成 績

ハプロタイプの決定と頻度：tag-SNPsがTTA、CCA、CTGの父親由来ハプロタイプが全体の約80%を占め、それぞれ48名(35.8%)、29名(21.6%)、26名(19.4%)であった。これらのハプロタイプをSFD(small for date)児とそれ以外(AFD(appropriate for date)またはHFD(heavy for date)児)とで比較すると、SFD児では有意にハプロタイプCTGが多かった($p=0.03$)。

ハプロタイプ解析：父親由来のハプロタイプCTG(55名)とそれ以外(221名)とで胎児・胎盤発育を比較した。父親由来ハプロタイプCTGを持つ児はnon-CTGの児と比べて有意に出生体重(2850.1 ± 509.3 vs. 3009.5 ± 414.4 , $p=0.02$)と出生時身長(47.6 ± 3.0 vs. 48.3 ± 2.0 , $p=0.04$)が低く、体重SD <-1.5 の児の数が多く($11/55$ vs. $23/221$, $p=0.02$)、胎盤重量が小さかった(542.7 ± 126.1 vs. 582.7 ± 109.0 , $p=0.02$)。

メチル化解析：両群間でH19/IGF-2領域におけるCTCF6とH19-DMR領域のメチル化状態に差を認めなかった。

考 案

今回選択したIGF-2遺伝子のtag SNPsがCTGの父親由来アレルをもつ児は胎盤重量が小さく、子宮内発育不全を起こしやすいことが示唆された。しかし、このハプロタイプはH19/IGF-2領域におけるCTCF6とH19-DMRのメチル化には影響していなかった。

IGF2ノックアウトマウスは胎児胎盤発育が野生株の約60%と悪く2)、ヒトにおいてもIGF-II/IGF2R比が出生体重と関係があることからこれまでIGF-IIと胎児発育の関係が注目されていた。父親由来のImprinting geneであるIGF2遺伝子の多型と胎児発育との関係をアレルの由来を明確に区別して検討し関係を見いだした報告は我々の研究がはじめてである。このハプロタイプ上に胎盤発育に関係する部位が存在することが予想され、今後の研究課題と言える。

H19/IGF-2領域のCTCF6やH19-DMRの低メチル化で重度の胎児発育不全と生後の発育障害をきたすシルバーラッセル症候群となり、同部位の高メチル化では巨大児となるベックウィズヴィーデマン症候群となることから、ハプロタイプCTGが同部位のメチル化状態への影響を検討したが関係は見いだせなかった。ハプロタイプCTGは他のメチル化領域またはヒストン修飾など他のエピジェネティックな作用へ影響している可能性が示唆された。

結 論

今回の我々の研究からIGF2遺伝子の父親由来のアレルが胎児・胎盤発育が関係していることがわかったが、そのメカニズムは十分に説明することができず、今後の課題と言える。




引 用 文 献

1. Arends N, Johnston L, Hokken-Koelega A, Duijn CD, Ridder MD, Savage M, Clark A. Polymorphism in the IGF1 gene: Clinical relevance for short children born small for gestational age (SGA). *J Clin Endocrinol Metab* 87: 2720-2724, 2002
2. DeChiara TM, Robertson EJ & Efstratiadis A. A growth-deficient phenotype in heterozygous mice carry an insulin-like growth factor II gene disrupted by targeting. *Nature* 344: 78- 80,1990
3. Giquel C, Rossignol S, Cabrol S, Houang M, Steunou V, Barbu V, Danton F, Thibaud N, Le Merrer M, Burglen L, Bertrand AM, Netchine I, Le Bouc Y. Epimutation of the telomeric imprinting center region on chromosome 11p15 in Silver-Russell syndrome. *Nat Genet* 37:1003-1007,2005

参 考 論 文

1. 長屋建、竹田津原野、藤枝憲二、胎児発育と IGF ホルモンと臨床 2007 ; 55 : 49-55
2. 長屋建、藤枝憲二 : 胎児発育障害と IGFs の役割、日本小児科学会誌、113 : 1195-1204、2009

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏名	長屋 建
<p>審査委員長 西川 祐司 </p> <p>審査委員 千石 一雄 </p> <p>審査委員 蒔田 芳男 </p>			
学位論文題目			
Paternal allele of IGF2 gene haplotype CTG is associated with fetal and placental growth in Japanese” (日本人における父親由来アレルのインスリン様成長因子タイプ II 遺伝子ハプロタイプ CTG は胎児胎盤発育に関係がある)			
<p>胎児および胎盤の子宮内発育不全は小児科学領域において大きな問題の 1 つであるが、その原因に関しては不明の点が多い。インスリン様成長因子 (IGF) 1, 2 は胎児および胎盤の発育に重要な役割を持つとされ、これまで IGF1 の遺伝子多型が胎児発育に影響を及ぼすことが報告されている。しかし、IGF2 の遺伝子多型と胎児発育の関連を示すデータはこれまで存在しなかった。IGF2 は maternal imprinting を受け、父親の遺伝子からのみ発現する。本研究は子宮内胎児胎盤発育不全に関わる父親由来 IGF2 遺伝子のハプロタイプを同定する試みで、IGF2 遺伝子内の 3 つの tag SNPs で規定される CTG ハプロタイプが低体重、低身長、低胎盤重量に有意に関連することを明らかにした。134 名の在胎 35 週以上の健常児およびその母親を対象とした初期の解析により、低体重児に頻度の高い CTG ハプロタイプの同定に成功し、その後、症例を増やし、最</p>			

最終的に 276 名の母子を対象としている。また、この CTG ハプロタイプは IGF2 遺伝子発現に影響する領域 (CTCF6 および H19-DMR) のメチル化とは関係がないことを確認している。膨大な解析により得られた以上の結果は、すでに小児科学専門誌に掲載されている (Pediatric Research 66: 135-139, 2009)。

本研究は IGF2 の遺伝子多型が子宮内胎児胎盤発育不全に関与しうることを初めて示したものであり、大きな意義を持つ。この知見をきっかけに IGF2 遺伝子の胎児胎盤発育における役割が明らかにされることが期待される。なお、CTG ハプロタイプが IGF2 遺伝子または関連遺伝子の機能にどのような影響を与えているのかは不明であり、今後その分子メカニズムの検討が望まれる。

申請者に対して、各審査委員から論文内容、関連領域について試問がなされ、これに対して適切な回答が寄せられた。

本審査委員会では慎重な意見交換を行い、本論文は申請者が積み重ねた努力の結果であり、小児科学分野において学術的にも十分に貢献したことを認め、学位を授与する価値があると結論した。