

201231069B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

遺伝性女性化乳房の実態把握と診断基準の作成に関する研究

平成23年度～平成24年度 総合研究報告書

研究代表者 生水 真紀夫

平成 25(2013)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

「遺伝性女性化乳房の実態把握と診断基準の作成に関する研究」

平成23年度～平成24年度 総合研究報告書

研究代表者 生水 真紀夫

平成 25(2013)年 3 月

目 次

I. 総合研究報告

遺伝性女性化乳房の実態把握と診断基準の作成に関する研究 -----	1
研究代表者 生水 真紀夫	

資料 平成22年度 総括・分担研究書 -----	18
平成23年度 総括・分担研究書 -----	39

II. 診断基準案（2012年度版）

遺伝性女性化乳房症 診断の手引き案（2012年度版） -----	61
別表 女性化乳房の原因 -----	63

III. 研究成果の刊行一覧・別刷 -----	65
-------------------------	----

IV. 班構成員名簿 -----	123
------------------	-----

I . 総合研究報告

総合研究報告書

遺伝性女性化乳房の実態把握と診断基準の作成に関する研究

研究代表者 生水 真紀夫 千葉大学大学院医学研究院生殖医学 教授

研究要旨

遺伝性女性化乳房症は、乳房増大・低身長・不妊から男性の QOL を著しく低下させる遺伝性疾患である。女性にも発症する。本疾患が独立した疾患であることが明らかにされてからの歴史は浅く、いまだ十分な診療体制が整っていない。そこで、本邦における本症の診療の現状を明らかにし、早期診断・診療体制の整備を目的として診療の実態把握と診断基準の策定、系統的細胞遺伝学的検査方法の開発研究を実施した。全国アンケート調査とその後の個別詳細調査により、本症であることがほぼ確実と考えられた症例が 26 例把握された。同意の得られた患者について、新たに開発した系統的細胞遺伝学的診断法を適用しアロマトラーゼ遺伝子 (*CYP19A1*) の解析を行ったところ、微細な遺伝子重複（蛋白コード領域、プロモーター領域）・微細な遺伝子欠失が、本疾患の新たな責任変異として同定された。人口比あたりのわが国の患者数は海外からの文献報告例数に比較して多いこと、わが国患者は女性化乳房症の程度が比較的軽く発症年齢が遅い傾向にあることが明らかとなった。実際に罹患率が高いのか、それとも診断バイアスによるものかは今後検討する必要がある。集積された情報を分析して、臨床的項目 4 つからなる臨床的診断基準を策定した。3 項目を満たす症例を疑い例、4 項目を満たす症例を臨床的確定例とし、その後の系統的細胞遺伝学的検査により *CYP19A1* 変異を同定して確定診断とする。この臨床診断基準は、患者の拾い上げ基準として感度・特異度ともに良好であり、系統的細胞遺伝学的検査も有用であることが示された。本診断基準の周知と細胞遺伝学的検査支援体制の維持により、本症患者の早期診断治療が可能になるよう努める必要がある。

研究分担者

深見真紀	国立成育医療研究センター 部長
原田信広	藤田保健衛生大学医学部 教授
横田千津子	城西大学薬学部薬学科 教授
花木啓一	鳥取大学医学部保健学科 教授
野口眞三郎	大阪大学大学院医学系研究科 教授
碓井宏和	千葉大学大学院医学研究院 講師

A. 研究目的

遺伝性女性化乳房症は、高度で反復性の乳房増大・低身長・不妊をきたし、男性の QOL を著

しく低下させる遺伝性疾患である。女性においては、思春期早発・巨大乳房・不正出血などをきたし QOL を低下させる。早期に診断し適切な薬物療法を行うことにより、これらの症状を予防できると考えられているが、現状では専門とする診療科がない、新しい疾患概念で臨床医に十分認知されていない、系統的遺伝子診断が可能な施設がないことなどから、患者の多くが診断・治療を受けられずにいるものと推定される。本疾患に該当する症状を示す患者は、1960 年

ころからすでに認められていたものの、独立した疾患として認知されていない状況が長く続いていた。当初男性患者が発見されていたことから、伴性劣性遺伝と推定されたものの、一部に女性患者の存在を推定させる家系も存在していて、単一疾患なのか別の疾患なのかなどについても不明であった。1990年代にアロマターゼ遺伝子（*CYP19A1*）がクローニングされ、*CYP19A1*の遺伝子配列が明らかにされた。その後の飛躍的な分子遺伝学の発達にともない、本疾患の原因解明に向けて、患者ゲノムの遺伝子解析が開始された。当初、シーケンスやザンブロットなどの解析手法を用いたDNA解析が行われたが、その原因は特定できなかった。

われわれは、*CYP19A1*の多重エクソンI構造に注目して、本疾患3家系の分子遺伝学的解析を行い、本疾患が*CYP19A1*のプロモーター変異による単一遺伝子病であることを2003年に初めて報告した。本疾患家系の*CYP19A1*では、エクソンI.1の近傍上流で反対鎖（+鎖）上にある*CYP19A1*とは異なる遺伝子のプロモーターを含むDNA領域が逆位をきたし、その結果*CYP19A1*のあらたなプロモーターとして機能したことにより、アロマターゼが全身の臓器・組織で過剰に発現していた。染色体微細逆位により近傍反対鎖上の遺伝子プロモーターがアロマターゼの新たなプロモーターとしてリクルートされて過剰発現をきたすという機序は、新たなタイプのgain-of-function mutationとして注目されるものであった。

この結果、それまで臨床症状から診断推定されていた遺伝性女性化乳房症は、分子遺伝学的手法によって発症前に正確に診断できるようになった。また、酵素活性の測定などの生化学的分析手法では診断が困難であった症状の比較的軽い症例においても分子遺伝学的手法により確実に検出できるようになった。これにより、本疾患では遺伝子型と表現型に一定の相関があること、臨床症状の軽微な遺伝子変異をもつ家系が存在することなどが明らかになった。

一方、1990年代後半から閉経後乳がんを標的としたアロマターゼ阻害剤の臨床応用が始まった。アロマターゼ阻害剤は、血中および組織内エストロゲンを効率よく低下させること、長期の投与によっても重大な副作用が生じにくいことが明らかにされた。また、アロマターゼ阻害剤が排卵誘発作用や子宮内膜症抑制作用を示すことも明らかとなり、良性疾患（PCOS）への試験的投与も始まった。遺伝学的検査により診断を確定することができた本疾患症例を対象にしたわれわれの暫定的研究では、アロマターゼ阻害剤が速やかな血中エストロゲンの低下と乳房の縮小効果を示すことが明らかとなった。

このように、細胞遺伝学的診断が可能になり、アロマターゼ阻害剤による治療の可能性が示唆されたことから、遺伝性女性化乳房症の早期診断治療の可能性が現実のものとなった。先にも述べたように、本疾患は思春期前に発症し、その後は進行性に症状が進んで再発性・難治療性の乳房腫大や不可逆性低身長などの症状が出現する。したがって、発症前に細胞遺伝学的に診断を確定し、発症前の予防的治療を行うことで、患者のQOLの改善を図ることができると考えられる。

そこで、われわれは本邦における患者数の把握および診療実態の解明、本症の診断法の確立と治療効果の検証を目指した研究を企画した。

（図1）。まず、文献調査およびアンケート予備調査により全国調査方法を検討したうえで（平成22年度）、本調査・詳細調査を実施して、わ

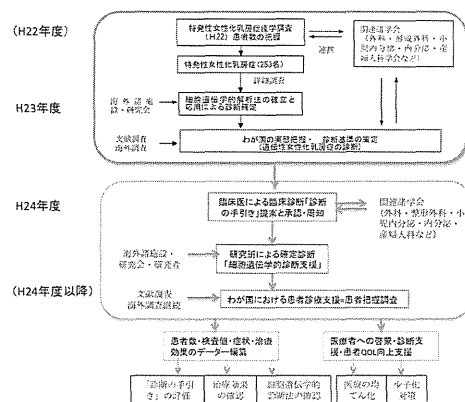


図1. 研究計画の概略

が国における本症患者数の把握および診療実態を把握する（平成 23 年度）。ついで、細胞遺伝学的診断法の開発とその検証を行い、系統的な細胞遺伝学的診断法の確立とそのファシリティーの提供を実施する。これらの一連の作業を通じて症例の基礎的データを集積し、これら进行分析して診断基準（案）を作成する。これにより、本症の早期診断を可能にし、早期介入により患者の QOL の改善を目指す（平成 24 年度）。

本疾患診療における問題点のひとつは、本疾患の認知度が低いことにある。本疾患が独立した疾患であることが明らかになって 10 年程度と歴史が浅く、稀な疾患であることによる。そこで、本研究は、認知度を高めて早期診断治療の為の環境を整備することを目標の一つとした。このように本研究は、本症の早期診断治療介入を可能にするものであり、研究成果は患者への介入（治療）効果として評価されるものである。したがって、研究事業の評価は、比較的長いスパンで継続して行う必要がある。

B. 研究方法

1. 文献調査

医学文献データベース（Pubmed）、医学中央雑誌を用いて国内症例の文献調査を行った。1983 年から 2012 年に報告された女性化乳房症例の報告（検索語：女性化乳房/TH or 女性化乳房/AL）を検索し、タイトル・抄録を基に女性化乳房症例を分類・集計した。英文文献は、PubMed を用い、(gynecomastia) AND (familial or hereditary) をキーワードとして検索した。

2. 国内患者の実態調査

わが国における遺伝性女性化乳房症の実態を把握するために、2010 年から 2011 年にかけて全国の医育機関・研修指定病院を中心とする基幹施設を対象にアンケート調査（一次調査）を行った。乳腺外科領域（日本乳癌学会認定・関連施設）、形成外科領域（認定・教育関連施設）、小児科領域（小児内分泌学会会員）、内科領域（日

本内分泌学会 認定教育施設）に計 2,817 通を発送した。女性化乳房患者の有無、年齢、推定原因、家族歴などについて質問した。個人情報はいずれも各施設で連結可能匿名化した後に、返送するよう依頼した。この一次調査をもとに、遺伝性女性化乳房の可能性が極めて高い症例（カテゴリー 1a）、遺伝性ははっきりしないが、若年発症であり、孤発性アロマターゼ過剰症の可能性のある症例（カテゴリー 1b）、若年発症でない症例（カテゴリー 2）、2 次性女性化乳房症例（カテゴリー 3）、臨床情報が十分に把握されていない症例（カテゴリー X）に分類した。その後、2011 年から 2012 年に、遺伝性女性化乳房症の可能性があると考えられた症例（カテゴリー 1b）および情報が不十分でカテゴリー X とされた症例の一部について、個別照会による二次調査を実施し、協力の得られた症例については細胞遺伝学的検査を実施して診断を確定した。

3. 遺伝子解析

これまでのわれわれの検討から、アロマターゼ遺伝子およびその近傍の遺伝子構造の異常が遺伝性女性化乳房症の原因となっていることが判明している。この知見に基づいて、2010 年微細染色体逆位以外の構造異常も系統的に検出できる新たな検査システムを開発した。

まず、15 番染色体のカスタム CGH oligo-probe array により遺伝子欠失・重複についてスクリーニングする。構造に異常が疑われた症例については、ゲノム情報を参考に個別にプローブをデザインして long range PCR 法により DNA 切断端の同定を行い、シーケンスにより診断を確定する。また、DNA 切断端を含む DNA フラグメントをプローブとして fluorescence in situ hybridization を行う。

CGH array で異常が検出されなかった症例については、次に 5'-rapid amplification of cDNA ends によるスクリーニングを実施する。新規のプロモーターについてはシーケンスを行って配列を確定する。long rang PCR および FISH により、切断端の確定と実際の構造異常の確認

を行う。

(倫理面への配慮)

本研究にあたり、研究計画「遺伝性女性化乳房の実態把握と診断基準の作成」について、千葉大学大学院医学研究院生命倫理審査委員会の審査承認を受けた。

遺伝子解析は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守の下で行い、研究への参加および撤回は自由意志で決定されるよう配慮した。個人情報、研究組織に属さない管理者によって連結可能匿名化と情報の保護が行われた。

「疫学研究に関する倫理指針」および「臨床研究に関する倫理指針」に準拠して、疫学調査は施行された。「難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル 第2版」(川村孝編著)に準じて調査に関する具体的手続きを実施した。

C. 研究結果

1. わが国における遺伝性女性化乳房症診療の実態

1-1. 患者数の把握 (表1・2および図2)

1-1-1 邦文文献

1983年以降本年度までの報告例を含めて、文献調査結果を表1に示す。

1983年から2012年までに、(女性化乳房/TH) or (女性乳房/AL)を検索語として医学中央雑誌データベースで検索したところ、ヒットした文

表1. 女性化乳房症例の邦文での報告症例の集計

薬剤	33	薬剤性	33
		染色体異常	24
先天性	38	酵素欠損症	4
		アンドロゲン受容体関連	10
神経筋疾患	44	神経筋疾患	44
腫瘍	75	腫瘍	75
		高プロラクチン血症	6
ホルモン	31	甲状腺疾患	10
		中枢性ホルモン異常	15
		透析	9
その他	28	肝硬変	6
		その他	13
特発性	39	特発性	39

特発性として報告された症例のうち、本研究班の診断基準2012年案に照らして該当しないと思われた症例は除いて集計している。

献が661件あり、これらの文献を個別に検討して女性化乳房症症例報告を含まないものおよび重複報告例と判断できた328文献を除き、最終的に333件に女性化乳房症症例の記載を見いだすことができた。これらの症例を原因別に集計したところ、57例が特発性女性化乳房症の疑い症例と判断された。そこで、この57症例に本研究班の診断基準を暫定的に適用してみたところ、39例が特発性女性化乳房症と臨床診断された(表1)。このうち、2010年以降2012年度までにあらたに本邦で報告されたものが3家系あったが、そのうち2家系が本研究班の関与した報告であった。したがって、本研究班の活動を開始した2010年以降、研究班の活動がおおむね認知され、症例が研究班に集積できているものと思われた。2010年以前に報告された症例を含め、本研究班で遺伝子解析を開始することのできた症例を表2にリストした。

1-1-2 欧文献

次に、海外報告例について調査集計を行った。その結果、1977年以降に欧文で発表された本症と思われる症例は、28例20家系であった。このうち、15例9家系が本研究班員からの報告であった。表2には、2010年以前に海外で報告されていたものの、その遺伝子異常が同定できていなかった症例について、本研究班による解析が可能になった症例や、新たに照会を受けて解析を進めることができた症例が含まれている。本研究班の活動が世界的にも認知されてきているものと思われる。

表2 当該研究班で細胞遺伝学的検査を開始できた症例

•Yamanashi: 1 family and 2 cases
•Tokyo: 1 case
•Osaka: 2 families
•Fukuoka: 1 family
•Kanagawa: 1 case
•Hakodate: 1 case
•Okinawa: 1 family

•Germany: 1 family
•Switzerland: 2 cases
•Australia: 1 case
•Canada: 1 family
•Dominica: 1 family
•New Zealand: 1 family

1-2. 全国アンケート調査による臨床像の把握

遺伝性女性化乳房症患者数(表3)

2010年に、全国の医療機関と医師を対象にアンケート調査を実施した。2011～2012年度は、二次調査（アンケート調査および詳細調査）を実施した。

一次調査では304例の特発性女性化乳房症の患者がリストアップされた。そのうち、23例に遺伝性が認められ、本症の可能性が高い症例と考えられた(カテゴリー1a)。146例は、発症年齢が25歳以前でかつ、臨床的に生理的思春期の乳房腫大が否定されていて、本症の可能性が残る症例(カテゴリー1b)であった。また、一次調査で返信された臨床情報が不十分で本症の可能性が否定できない女性化乳房症が42症例あった(カテゴリーX)。そこで、カテゴリー1aと1bおよびX症例について、二次調査を実施した。アンケート調査後に、必要性に応じて個別の聞き取り調査を実施した。その結果、カテゴリー1aから2例、カテゴリーXから1例に遺伝性が確認され、合計26例が本症の可能性が高いカテゴリー1a症例に新たに加えられた。これらの患者のうち、細胞遺伝学的検査の希望のある症例について調査を実施した。

1-2-1 女性化乳房症の推定原因(鑑別疾患)

今回のわれわれの文献調査では、2009年以前に推定できる原因がないとされていた症例が54例あったが、そのうち報告者が特発性(遺伝性)女性化乳房と推定していたものは5例のみであ

った。2010～2012年に報告された3家系では、いずれも遺伝性女性化乳房症と推定していた。本研究班の活動により認知度が高まった結果と考えられた。

なお、続発性女性化乳房の原因として推定されていた疾患・病態としては、表1に示すように薬剤性、先天性、神経筋疾患、腫瘍、ホルモン異常などであった。遺伝性女性化乳房症の除外疾患を考える上で有用な情報と考えられた。

1-2-2 遺伝性女性化乳房症の患者年齢分布(図3、4)

原因が不明で特発性とされた症例の発症年齢を図3に示す。このうち家族歴を有する症例が、遺伝性女性化乳房にほぼ該当すると考えられるが、表に示すようにこれらの症例は思春期あるいは前思春期の発症に限られていた。20歳以降での発症例は、すべて2次性の女性化乳房症で、高齢者では生理的な女性化乳房症例も含まれていた。一方、思春期発症例の1/3-1/5が遺伝性女性化乳房であった。全思春期の症例にはheterosexual precocious pubertyの症例が含まれていた。

遺伝子検査などにより診断がほぼ確定できた症例に限って発症年齢を集計したものを図4に示す。1例を除き10歳以降の発症で13歳での発症が最も多かった。このような発症年齢は、海外報告例が全思春期例であるのに比べやや遅いものと思われた。これには、わが国での発症例に比較的女性化乳房の程度の軽い症例が多く

- 平成22年度 feasibility study
 - 一次アンケート調査
 - 細胞遺伝学的解析法
- 平成23年度
 - 二次アンケート調査
 - 細胞遺伝学的解析
 - 診断基準案の策定
- 平成24年度
 - 診断基準の作成・周知
 - 細胞遺伝学的診断法の評価
 - 最終報告書の作成

図2 平成22-24年度における本研究班での研究概略

表3 全国調査による結果のまとめ(患者数の把握)

カテゴリー	AEXSの可能性	発症年齢	家族歴	推定原疾患	数	
					2005以降	全期間
1	a	<25	あり	—	20	26
		記載なし	あり	—	0	0
	b	<25	なし or 不明	—	120	146
2	AEXSの可能性が否定できない	≥25	Any	記載なし	78	84
3	ほぼ否定できる(2次性など)	Any	なし	肝硬変など	7	9
X	情報不十分	記載なし	家族歴なし or 記載なし		5	41
合計					230	304

一次および二次アンケート調査にもとづき、個別調査を実施して作成した。

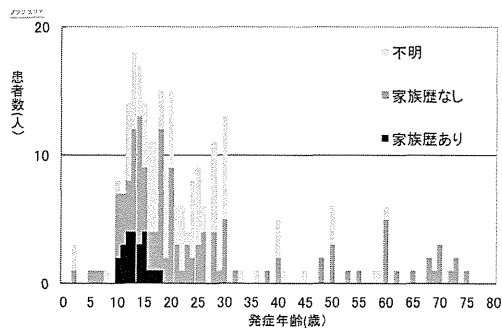


図3. 特発性女性化乳房症の発症年齢分布

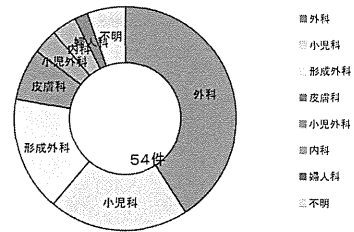


図5 遺伝性女性化乳房症疑い例の取り扱い診療科

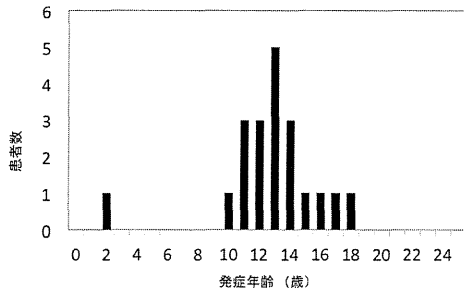


図4. 遺伝性女性化乳房症の発症年齢

2010-2012年に報告された邦文文献では、発症年齢の記載がなかったため、図はそれ以前の集計と同じ数値になっている

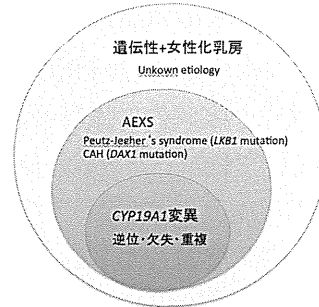


図6 AEXS 疾患の定義

含まれているように見受けられることと関連しているものと推定される。

1-2-3 女性化乳房症症例の診療担当科 (図5)

特発性女性化乳房症

2011 年度末までの症例で遺伝性女性化乳房症が疑われた 54 症例の担当診療科は、外科、小児科、形成外科、皮膚科、小児外科、内科などであった (図5)。遺伝性女性化乳房症は、この特発性女性化乳房症に含まれると考えられ、本症はその 9 割が外科・形成外科、小児科、内科の 4 科で診断されていることが明らかとなった。

2. 診断基準の策定

2-1. 疾患の定義・概念 (図6)

名称: 遺伝性女性化乳房症は、英文の familial gynecomastia に相当する用語である。CYP19A1 変異による疾患であることが明らかとなった 2003 年以降は、aromatase excess syndrome, AEXS と記載されるようになった。直訳ではアロマターゼ (発現) 過剰症となるが、乳がんや子宮内膜症などさまざまな家族性でない疾患を除外するために、遺伝性アロマターゼ

過剰症 (aromatase excess syndrome, AEXS) と翻訳するのが適切と考えられる。

疾患の定義: 本疾患は、広義には、遺伝性的原因不明女性化乳房症と定義される。かつて「特発性女性化乳房症」と表現された疾患におおむね該当する。

このうち、アロマターゼ過剰発現により高エストロゲン血症をきたすものが、aromatase excess syndrome (遺伝性アロマターゼ過剰[発現]症であり、CYP19A1 変異以外にも様々な遺伝子異常 LKB1 変異による Peutz Jeghers 症候群や DAX1 変異による先天性副腎過形成などがある。

さらに、このうち CYP19A1 変異によるものが、狭義の本疾患である。

一方、最も広義の遺伝性+乳房腫大を示すグループには、まだ同定されていない遺伝子変異によるアロマターゼ発現症例が含まれている可能性がある。このような未同定の疾患が個発している場合には、遺伝性の判定も困難であり鑑別診断にすら挙げられていない可能性がある。

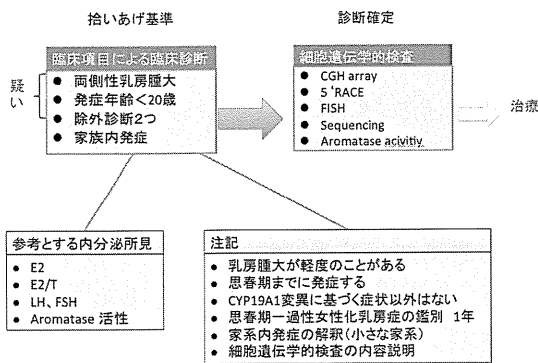


図7 遺伝性女性化乳房症候群の診断フロー

2-2. 診断のフロー・手引きと診断基準 (図7)

本疾患は、*CYP19A1* 変異に基づく疾患であり、遺伝子解析が最終診断の根拠となる。しかしながら、本症の遺伝子解析を一般診療で行うことは、倫理的・経済的問題を伴う他に、遺伝子診断法が確立しておらず、実際に検査を施行できる検査施設が存在しないなど様々な問題がある。

そこで、本研究班では系統的な遺伝子解析法(細胞遺伝学的検査方法)の開発と、本疾患である可能性の高い患者を効率的よく拾いあげることのできる臨床的診断基準(とその手引き)の作成を目指して、検討を行った。その結果、

図7に示す手順での診断を提案することとした。種々の検討の結果、臨床項目のみによる診断においても、かなりの精度をもって遺伝性女性化乳房症の診断が可能であることが明らかとなったため、細胞遺伝学的確定診断を行っていなくても遺伝性女性化乳房症の「臨床診断名」を用いてよいと判断した。

2-3. 診断の手引き案(2012年版)(図8、表4)

前項に挙げた診断フローに基づいて、「細胞遺伝学的確定診断のための効率的診断を行うための臨床的スクリーニングツール」と位置づけて作成した診断の手引きを、図8に示す。

臨床診断は、1) タナー分類2度以上の両側性乳房発育、2) 発症年齢が20歳以下、3) 2次性女性化乳房と思春期一過性女性化乳房症を除外できる、4) 家系内発症がある の4項目により行う。1-3までを満たした場合を疑い例、1-4までを満たした場合を診断確定例と診断する。これまでに蓄積した症例について種々検討した結果、これらの診断基準でほぼ確実に診断できることが確認された。

遺伝性女性化乳房症 診断の手引き案 (2012年度版)

遺伝性女性化乳房

遺伝性女性化乳房は、性腺外組織で過剰に産生されたエストロゲンにより男性に女性化乳房・低身長などの症状をもたらす常染色体優性の遺伝性疾患である。これまでに、アロマターゼ遺伝子に構造異常をもつ家系が知られている。アロマターゼ阻害剤投与により症状の発症を抑制できる可能性があることから、早期診断が望まれる。

診断基準

診断項目1)~4)の項目を満たすものを、臨床的に遺伝性女性化乳房と診断する。同意を得て、末梢血白血球の細胞遺伝学的検査により診断を確定する。1)~3)を満たすが、4)を満たさないものは疑い例とし、細胞遺伝学的検査により診断を確定する。血中ホルモン値は、診断の参考にとどめ、診断基準には含まれない。

A. 診断項目

- 1) タナー分類2度以上の両側性乳房発育¹⁾
- 2) 発症年齢が20歳以下²⁾
- 3) 2次性女性化乳房³⁾と思春期一過性女性化乳房症⁴⁾を除外できる
- 4) 家系内発症がある⁵⁾

B. 参考とする内分泌検査

- 血中エストロジオール(E2):
高値例が多いが、高値を示さない症例も存在する。E2値から本症の可能性を除外することはできない。
- E2/テストステロン比:
T から E2 への転換率を反映する。遺伝性女性化乳房症では、E2(ppg/ml)/T(ng/ml)(T) > 10を示す例が多いが、その他の疾患(クラインフェルター症候群、肝疾患など)でもE2/T > 10となることがある。
- 血中ゴナドトロピン:
FSH 感値、LH 基準値のことが多い。
- アロマターゼ活性
乳腺組織のアロマターゼ活性が、同年齢の健常者に比し高値を示す。乳腺以外の皮下脂肪や血中単核球のアロマターゼ活性も、高値を示す例が多い。

C. 細胞遺伝学的検査

末梢血白血球ゲノム DNA を用いてアロマターゼ遺伝子の変異を同定する⁶⁾。乳腺もしくは皮膚より採取した組織から細胞を分離して、アロマターゼ活性を測定することもできる。末梢血単球で代用できることもある。

注記

¹⁾ 乳房腫大は進行性である。腫大の程度は遺伝子型と相関しており、遺伝子変異型によっては、乳房腫大が軽度にとどまる家系もある。両側の腫大を示すが、腫大の程度に左右差がある例もある。女性例では、巨大乳房として認識される。

²⁾ 思春期、遅くとも20歳までに発症(乳房腫大を自覚または他覚)する。前思春期から、乳房腫大が始まる例がある。

³⁾ 2次性女性化乳房(付表)の可能性を除外する。2次性女性化乳房では、それぞれ原疾患の所見や兆候があるのに対し、遺伝性女性化乳房ではエストロゲン高値に基づく乳房腫大・低身長症以外の症状を示さない。

⁴⁾ 思春期男児には、生理的な一過性両側性乳房腫大がしばしば見られる。発症時期が思春期である、痛状(乳房の増大や疼痛)の進行がおおむね1年以内で止まりその後軽快に向かうなどの所見は、一過性乳房腫大を示唆する。

⁵⁾ 家系内発症があれば、本症である可能性が高い。父親に女性化乳房がみられる症例が多い。家系発症が確認できない場合でも、本症を確実に否定することはできない。母方の遺伝で巨大乳房が自覚されていない、*de novo*に発生した孤発例などの可能性がある。細胞遺伝学的検査、もしくは乳腺組織のアロマターゼ活性測定により診断を確定する。

⁶⁾ 5'-rapid amplification of cDNA ends, 5'RACE(プロモーター遊離)、15番染色体 comparative genomic hybridization (CGH)オリゴアプロープライ(重複、欠失)、fluorescence in situ hybridization (FISH)等により変異を検出し、シーケンシス等により確定する。

図8 遺伝性女性化乳房症 診断の手引き案(2012年版)

表 4 別表 女性化乳房の原因

症候性 (2次性)	原因	
A. 染色体異常	A1. X1inert1ter 染色体群	
	A2. XX 男性, Seyer 染色体群	
	A3. その他	
	B. 酵素欠損症	B1. 3β-HSD 欠損症
		B2. 21-hydroxylase 欠損症
		B3. 17α-hydroxylase 欠損症
	B3. その他	
	C. アンドロゲン 受容体関連異常症	C1. アンドロゲン不応症
		C2. その他
	D. 神経筋疾患	D1. 鎌倉型性筋萎縮症 (Kennedy-Alter-Sung 型筋病)
		D2. POM3 症候群 (Crow-Fukase 症候群)
		D3. 筋強直性ジストロフィー
		D4. ミトコンドリア病筋症
		D5. 筋ジストロフィー
		D6. その他
	E. 悪性腫瘍	E1. hCG 産生腫瘍 (卵巣、胃癌、精巣腫瘍、尿管移行上皮癌など)
		E2. 網膜癌 (胃癌、喉頭癌、膀胱癌、精巣腫瘍)
		E3. 胚細胞性腫瘍 (精巣腫瘍、卵巣腫瘍)
		E4. エストロゲン産生腫瘍 (胃癌、精巣腫瘍、卵巣腫瘍)
E5. 肝細胞癌		
E6. Peutz-Jeghers 症候群		
E7. 悪性リンパ腫		
E8. 多発性内分泌腫瘍		
E9. その他		
F. 内分泌疾患	F1. 甲状腺機能亢進症	
	F2. 低ゴナドトロピン性性腺機能低下症	
	F3. 高ゴナドトロピン血症	
	F4. GH 分泌不全症	
	F5. acH 尿症欠損症	
	F6. 高プロラクチン血症	
	F7. その他	
G. 肝疾患	G1. 肝硬変	
	G2. その他	
H. 腎疾患	H1. 透析	
	H2. その他	
I. 薬剤性	I1. グルココルチコイド	
	I2. 降圧剤	
	I3. 抗精神薬	
	I4. 利尿剤	
	I5. ホルモン剤	
	I6. 抗がん剤	
	I7. 高脂血症薬	
	I8. 漢方薬 (牛黄解毒丸)	
	I9. 母乳	
	I10. その他 (male to female などを含む)	
J. 特定の原因が 見あたらないもの (2次性でない)	J1. 家族性・遺伝性がない	
	J2. 家族性・遺伝性がある (確定も含む) [家系内に女性化乳房患者がいる場合など]	
	J3. 家族性・遺伝性が不明	
	J4. その他	

内分泌検査項目 4 つについては、診断時の参考にとどめ、それぞれの意義・特徴について解説を加えている。本症は、エストロゲンの上昇やアンドロゲンの低下など特徴的な内分泌病態を示すが、その判断の基準を設定することが困難であり、基準を設定することで拾いあげから漏れる症例が存在することが危惧された為である。内分泌専門家が病態を踏まえて診断の参考にするには有用な検査である。

臨床診断基準により本症と診断された症例については、患者の同意を得て細胞遺伝学的検査により診断を確定する。この検査については、本研究班で開発した系統的分子細胞生物学的診断法を用いる。当面、当該研究班が実施を担当できる体制を継続する。

2-4. おもな検討項目

この過程で問題となり検討を重ねた項目のうち 3 点について概説する。

2-4-1 遺伝性の有無についての取り扱い

本症は遺伝性をその病名につけていることから、本疾患の本質的な要件である。しかしながら、de novo で発生しうると考えられること、母方からの遺伝による場合には軽症例が遺伝性と認識されない可能性があることが、本研究班の集積症例から判明しており、遺伝性を必須要件とした場合、これらの症例が診断されない可能性が生じる。そこで、遺伝性があるものを臨床的遺伝性女性化乳房症とし、遺伝性が確認できないものを疑い例として、いずれも細胞遺伝学検査により診断を確定することを推奨することとした。

2-4-2 内分泌検査の取り扱い

本症では、アンドロゲンからエストロゲンへの転換率が上昇し、エストロゲン上昇とアンドロゲン低下が特徴となると期待される。実際、血中エストラジオール (E2) は高値となる例が多いが、高値を示さない症例も存在する。特に、遺伝子重複などの軽症例では E2 値は極端な高値を示さない傾向があり、年齢的変動を考慮すると基準値を示す (推定する) ことは困難である。エストロゲンの基準を設定して、本症の可能性を除外診断することは適切ではないと考えられる。そこで、エストロゲン高値例では、診断スクリーニングに有用とも考えられ、「高値例が多いが、高値を示さない症例も存在する。E2 値から本症の可能性を除外することはできない」とすることで、スクリーニングからの脱落を防ぐこととした。

E2/テストステロン比は、T から E2 への転換率を反映する指標であり、アロマターゼ活性と相関すると予想される。実際、遺伝性女性化乳房症では、 $E2[pg/ml]/T[ng/ml](T) > 10$ を示す例が多い。しかしながら、その他の疾患 (ラインフェルター症候群、肝疾患など) でも $E2/T > 10$ となることがあることが知られている。さらに、 $E2/T$ が高くない症例も存在している (図 9)。したがって、本指標が有用な症例が多く存在す

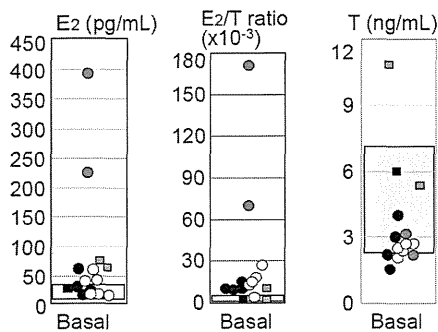


図9 血中ホルモン値

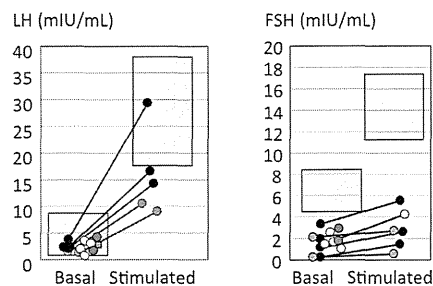


図10 血中ゴナドトロピン値

るものの、エストロゲン値と同様に疾患の否定には使えないものと思われる。

血中ゴナドトロピン： FSH 基礎値が低値、LH 基礎値が基準値のことが多い。GnRH 負荷により LH はほぼ正常反応を示すが、FSH の上昇は軽微に留まる（図 10）。顆粒膜細胞腫などでも同様の所見を呈することがあり、ゴナドトロピン値からの鑑別は困難である。

アロマターゼ活性： これまでに検討された症例では、乳腺組織のアロマターゼ活性が、同年齢の健常者に比し高値を示す。乳腺以外の皮下脂肪や血中単核球のアロマターゼ活性も、高値を示す例が多い。しかし、これは、*CYP19A1* の新規獲得プロモーターがいわゆるハウスキーピング遺伝子由来であったことによる。*CYP19A1* 遺伝子重複例などでは、脂肪前駆細胞におけるアロマターゼ活性の基礎値の上昇は軽微で、かつ生理的発現調節機構を有しているために単球などでは活性上昇を示さない可能性がある。したがって、臓器や細胞のアロマターゼ活性を測定して高値であった場合には、診断的意義があるが、正常であった場合には本症である可能性について肯定も否定もできない。

このように、アロマターゼ活性の測定は、測定組織の問題、判定のために正常値の設定の問題、高値を証明できない場合でも本症が否定できないという問題などが内在しているため、あくまでも参考所見とすべきであると判断した

集積症例をもとに、エストロゲン（エストラジオール）の上昇、エストロゲン・テストステ

ロン比、FSH/LH などについて詳細に解析した結果、ホルモン値は臨床的診断基準に含めないことが適切と判断した。これは、これらの内分泌所見が認められない症例が存在すること、一方でこれらの内分泌所見が他の内分泌疾患でも認められることがあるとの分析に基づく。しかしながら、これらの内分泌所見には特徴的と考えられるものも含まれており、検討の結果、参考所見として記載し、その診断的意義についても解説することとした。

2-4-3 思春期女性化乳房症との鑑別

臨床的診断項目のうち、3) の生理的女性化乳房症との鑑別である。付表にあげている 2 次性女性化乳房症のほとんどは、それぞれ原疾患の所見や症状があるため、鑑別は容易である。思春期一過性女性化乳房症は、思春期～思春期後期にみられ、有痛性の一過性乳房腫大を示す。片側のみは発症や時期を代えて片側性に発症する症例も多いが、両側で対称性同時に発症することもある。このような症例では、前向きに鑑別するのは困難である。

海外文献や教科書などにも鑑別のための決定的な所見の記載は見当たらなかった。討議の結果、「思春期一過性」であることで遺伝性疾患と鑑別するのが最も合理的と判断した。一過性の基準について客観的評価に耐える基準は見当たらず、研究班での討議の結果、おおむね 1 年とすることが合理的と考えられるとの結論に至った。そこで、「乳房の増大や疼痛の進行がおおむね 1 年以内で止まりその後軽快に向かう」と表

現して、一過性乳房腫大を診断することとした。

3. 系統的細胞遺伝学的診断法

3-1. 系統的診断法の開発

本疾患の原因となる遺伝子異常を効率よくかつ系統的に検索するために、系統的分子細胞生物学的診断法を開発した。まず、15 番染色体 comparative genomic hybridization (CGH) オリゴプローブアレイを行い、重複、欠失を検出する。変異の可能性のある部位については、fluorescence in situ hybridization (FISH) 等により構造異常を確認し、シークエンス等により切断端を確定する。CGH アレイで異常が検出されない場合には、5'-rapid amplification of cDNA ends, 5'RACE を行って、プロモーター逆位の可能性を検討する。これまでの症例では、本法により微細逆位による de novo promoter が検出できている。切断端については、逆位情報にもとづいて個別にプライマーを設定して long range PCR を行い、増幅産物をシークエンスして変異を特定する。

なお、最近では次世代シークエンサーによる全ゲノムシークエンスが可能となっている。しかし、本疾患は今のところヘテロ変異であり、全ゲノムシークエンスは当面有力な診断法とされない可能性がある。

3-2. 系統的診断法により見いだされた CYP19A1 変異

本研究班での検討により、CYP19A1 の重複および欠失変異が本疾患の新規の遺伝子変異として同定された。したがって、CYP19A1 およびその近傍の染色体に存在する構造異常としては、①微細な逆位、②微細な重複、③微細な欠損の3つが存在している。さらに、これらの遺伝子異常の DNA 切断端の詳細な解析から、複数の変異が重複した複雑な構造異常の存在が明らかとなった。とくに、これまで逆位と判断してきた症例の DNA 切断点には欠失や重複など複数の異常が認められ、複雑な構造異常を示していた。この構造異常には、DNA これらの解析から、いずれも病変が微細なため、従来の染色体分析

(分染法) やサザンブロット法による検出は困難である。

同定された切断端の特徴から、相同組換え (non-allelic homologous recombination、NAHR)、非相同組換え (non-homologous end-joining、NHEJ) の他、fork stalling and template switching (FosTes) などの機序が関与していると考えられた。NAHR では、遺伝子の重複や欠失が生じ、NHEJ では何ら相同配列のない領域との組換えが生じており段端に小さな欠失を持つことがある。FosTes は microhomology を持つ領域を手がかりに DNA 複製フォークの転移が生じるもので欠失や挿入など複雑な遺伝子配列が介在している。

D. 考察

本研究により、本邦における遺伝性女性化乳房症の診療実態が明らかになった。2005 年～2011 年に把握できた症例は 20 名であったが、その後も毎年少しずつ増加している。思春期発症の患者は小児内分泌科で診断されている例が多いが、成人期に達して初めて外科や乳腺外科を受診している患者も認められた。今回の研究期間中に、本研究班のホームページを見て初めて本症の存在を知り、これまでどの診療科を受診したらよいか分からず一人で悩んでいたとして、相談をよせてくる成人例もあったことから、医療機関を対象とした調査ではすべての患者・家系を把握できていない可能性がある。これらの状況を鑑み、本邦における患者数を現時点で 30～60 名程度、15～30 家系前後と推定するのが良いのではないかと思われた。

本症の原因は、長く不明であった。研究代表者である生水らにより、本疾患が染色体微細逆位が原因となっていることが明らかとなり、その後 4 家系すべてで逆位が同定されたことから、染色体逆位が遺伝性女性化乳房症の遺伝子構造異常の特徴と考えられてきた。ところが、本研究班の研究により、新たに染色体微細欠損、染色体微細重複が原因である家系が初めて同定さ

れた。遺伝子欠失では、*CYP19A1* 近傍遺伝子の蛋白コード領域が欠失したために、アロマターゼ遺伝子の蛋白コード領域へのスプライシングが生じ、機能的な融合遺伝子が形成されていた。遺伝子重複では、*CYP19A1* のプロモーター領域の重複と *CYP19A1* のプロモーターと蛋白コード領域の両方を含む重複がみられた家系とが提供された。これらの遺伝子重複遺伝子では、生理的な発現調節が残されており、時間的空間的に生理的な発現パターンに類似し、発現量だけが倍加した発現を示すと予想される。このため、その臨床上昇は比較的軽くなっていた。一方で、逆位により発症した症例では、リクルートされたプロモーターはいずれもハウスキーピング遺伝子で非調節性に持続的（体質的）発現を示したために、エストロゲン上昇も高度で臨床症状も強くなっていた。このように、今回の解析から、遺伝型と表現型（乳房肥大の程度）とが良く相関することが明らかとなった。とくに、わが国には相対的軽症例が発見されたことから、わが国における臨床医の診断能力の高さが示唆された。一方で、臨床症状が軽いために看過されている症例が存在している可能性も示唆され、今後の検討課題と考えられる。また、遺伝子型と表現型との相関は、治療を考える上でも変異ごとの個別化が必要であり有用であることを示唆している。この点からも、遺伝子解析は有用と考えられる。

今回策定した診断手引き案は、臨床診断項目のみによる臨床診断を提案するものである。特殊な臨床検査を必要としない点で臨床医に使いやすいものになっている。われわれのリストアップした症例のほぼすべてが 1~4 の基準を満たしていたことから、今回の基準による見落としは少ないものと推定され、感度特異度共に優れたスクリーニング基準となっている。一方、思春期一過性女性化乳房症を鑑別して除外する必要がある点で診断の難しい症例が存在する。臨床診断例には、細胞遺伝学的検査により診断を確定することが推奨される。この遺伝子検査

は、症状が完成する前に診断を確定できるため早期介入、すなわち予防的治療を決断する有力な根拠となる。また、重症度を予測し、治療の個別化を図るための有効な情報を与える可能性がある。さらには、遺伝子相談に有用な情報を与えることもメリットである。

今回の診断基準案は、関連学会に提案して検討承認を得る必要がある。これにより、①現状では不十分な本症に対する認知度を上げる、②臨床医による適切な本症のスクリーニングを可能にすることを目指す。さらに、本研究班で開発・評価してきた系統的細胞遺伝学的診断を提供して、確定診断を支援する体制をとることができる。

E. 結論

わが国における遺伝性女性化乳房症の実態を明らかにし、問題点の分析とその解決策の検討を行った。わが国には 30~240 名程度の患者がいるものと推定されるが、本症を専門とする医師はおらず適切な診断・治療が行われていない状況にある。今回、臨床診断基準を策定するとともに、系統的細胞遺伝学的診断法を開発して確定診断のための支援体制の構築を試みた。今後、早期診断・治療により発症予防が可能となり、患者 QOL が改善するものと期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Maki Fukami, Junichi Suzuki, Kazuhiko Nakabayashi, Ryo Tsunashima, Tsutomu Ogata, Makio Shozu, Sinzaburo Noguchi. Lack of genomic rearrangements involving the aromatase gene *CYP19A1* in breast cancer. *Breast Cancer* 2013. Published online: 30 April 2013
2. Tsuruoka N, Arima M, Yoshida N, Okada S, Sakamoto A, Hatano M, Satake H, Arguni E, Wang JY, Yang JH, Nishikura K, Sekiya S, Shozu M, Tokuhisa T. ADAR1 Protein Induces Adenosine-targeted DNA Mutations in Senescent Bcl6 Gene-deficient Cells. *J Biol Chem*. 2013; 288(2): 826-836

3. Ichiro Tatsuno, Takashi Terano, Mitsugu Nakamura, Kiminori Suzuki, Kazuko Kubota, Jyunichi Yamaguchi, Tomohiko Yoshida, Sawako Suzuki, Tomaki Tanaka and Makio Shozu. Lifestyle and osteoporosis in middle-aged and elderly women: Chiba bone survey. *Endocr J*. 2013; (in press)
4. Akita S, Mitsukawa N, Rikihisa N, Kubota Y, Omori N, Mitsuhashi A, Tate S, Shozu M, Satoh K. Early diagnosis and risk factors for lymphedema following lymph node dissection for gynecologic cancer. *Plast Reconstr Surg*. 2013 Feb; 131(2): 283-90
5. Kazuyoshi Kato, Shinichi Tate, Kyoko Nishikimi, Makio Shozu. Bladder function after modified posterior exenteration for primary gynecological cancer. *Gynecologic Oncology* 2013 Apr; 129(1): 229-33
6. Kawashima Y, Nishimura R, Utsunomiya A, Kagawa R, Funata H, Fujimoto M, Hanaki K, Kanzaki S. Leprechaunism (Donohue syndrome): A case bearing novel compound heterozygous mutations in the insulin receptor gene. *Endocr J*. 2013 Jan 31. ; 60(1) : 107-12 (Epub 2012 Oct 9)
7. Iwata H, Masuda N, Sagara Y, Kinoshita T, Nakamura S, Yanagita Y, Nishimura R, Iwase H, Kamigaki S, Takei H, Tsuda H, Hayashi N, Noguchi S. Analysis of Ki-67 expression with neoadjuvant anastrozole or tamoxifen in patients receiving goserelin for premenopausal breast cancer. *Cancer*, 119(4):704-713, 2013.
8. Burris H. A., 3rd, Lebrun F, Rugo H S, Beck J T, Piccar M, Neven P, Baselga J, Petrakova K, Hortobagyi G N, Komorowski A, Chouinard E, Young R, Gnant M, Pritchard K I, Bennet, L, Ricci J F, Baully H, Taran T, Sahnoud T, Noguchi S: Health-related quality of life of patients with advanced breast cancer treated with everolimus plus exemestane versus placebo plus exemestane in the phase 3, randomized, controlled, BOLERO-2 trial. *Cancer*, in press. (online 15 Mar. 2013)
9. Ishikawa H, Kiyokawa T, Takatani T, Wang GW, Shozu M. Giant multilocular sex cord tumor with annular tubules associated with precocious puberty. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 206(1) : e14-16
10. Fukami M, Shozu M, Ogata T. Molecular Bases and Phenotypic Determinants of Aromatase Excess Syndrome. *Int J Endocrinol* 584807.2012
11. T. Miyoshi, Y. Maeno, H. Sago, N. Inamura, S. Yasukochi, M. Kawataki, H. Horigome, H. Yoda, M. Taketazu, M. Shozu, M. Nii, H. Kato, S. Hayashi, A. Hagiwara, A. Omoto, W. Shimizu, I. Shiraishi, H. Sakaguchi, K. Nishimura, K. Ueda, S. Katsuragi, T. Ikeda. Evaluation of transplacental treatment for fetal congenital bradyarrhythmia: A Nationwide survey in Japan. *Circulation Journal* 2012; 76 : 469-476
12. Furuya M, Okuda M, Usui H, Takenouchi T, Kami D, Nozawa A, Shozu M, Umezawa , Takahashi T, Aoki. Expression of Angiotensin II receptor-like 1 (APJ) in the Placentas of Pregnancy-Induced Hypertension. *International Journal of Gynecological Pathology* 2012; 31(3): 227-35
13. Kizaki Shoko, Matsui Hideo, Usui Hirokazu, Shozu Makio, Hanawa Shinsuke, Yamamoto Eiko, and Kikkawa Fumitaka. Normal human Chorionic Gonadotropin Regression Curves in Uneventful Postmolar Patients. *Journal of Reproductive Medicine* 2012; 57(5-6): 244-247
14. Kihara M, Usui H, Tanaka H, Inoue H, Matsui H, Shozu M. Complicating preeclampsia as a predictor of poor survival of the fetus in complete hydatidiform mole coexistent with twin fetus. *J Reprod Med*. 2012 Jul-Aug; 57(7-8):325-8.
15. Kalfa N, Fukami M, Philibert P, Audran F, Pienkowski C, Weill J., Pinto G., Manouvrier S., Polak M. Ogata, T, Sultan C. Screening of MAMLD1 mutations in 70 children with 46, XY DSD : identification and functional analysis of two new mutations : *PLoS One*. 7(3):e32505, 2012
16. Koyama Y, Homma K, Fukami M, Miwa M, Ikeda K, Ogata T, Hasegawa T, Murata M. Two-Step Biochemical Differential Diagnosis of Classic 21-Hydroxylase Deficiency and Cytochrome P450 Oxidoreductase Deficiency in Japanese Infants by GC-MS Measurement of Urinary Pregnanetriolone/ Tetrahydrocortisone

- Ratio and 11 β -Hydroxyandrosterone. *Clin Chem.* 2012 ;58(4):741-7.
17. Fukami M, Tsuchiya T, Takada S, Kanbara A, Asahara H, Igarashi A, Kamiyama Y, Nishimura G, Ogata T. Complex genomic rearrangement in the SOX9 5' region in a patient with Pierre Robin sequence and hypoplastic left scapula. *Am J Med Genet A.* 158A(7):1529-34. 2012
 18. Nagasaki K, Iida T, Sato H, Ogawa Y, Kikuchi T, Saitoh A, Ogata T, Fukami M. PRKAR1A mutation affecting cAMP-mediated G-protein-coupled receptor signaling in a patient with acrodysostosis and hormone resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 97(9):E1808-13
 19. Ogata T, Fukami M, Yoshida R, Nagata E, Fujisawa Y, Yoshida A, Yoshimura Y. Haplotype analysis of ESR2 in Japanese patients with spermatogenic failure. *J Hum Genet.* 57(7):449-452, 2012
 20. Qin XY, Kojima Y, Mizuno K, Ueoka K, Muroya K, Miyado M, Zaha H, Akanuma H, Zeng Q, Fukuda T, Yoshinaga J, Yonemoto J, Kohri K, Hayashi Y, Fukami M, Ogata T, Sone H. Identification of novel low-dose bisphenol a targets in human foreskin fibroblast cells derived from hypospadias patients. *PLoS One.* 7(5):e36711, 2012
 21. Kalfa N, Fukami M, Philibert P, Audran F, Pienkowski C, Weill J, Pinto G, Manouvrier S, Polak M, Ogata T, Sultan C. Screening of MAMLD1 mutations in 70 children with 46,XY DSD: identification and functional analysis of two new mutations. *PLoS One.* 7(3):e32505. 2012
 22. Kagami M, Matsuoka K, Nagai T, Yamanaka M, Kurosawa K, Suzumori N, Sekita Y, Miyado M, Matsubara K, Fuke T, Kato F, Fukami M, Ogata T. Paternal uniparental disomy 14 and related disorders: Placental gene expression analyses and histological examinations. *Epigenetics.* 2012;7(10) (in press)
 23. Miyado M, Nakamura M, Miyado K, Morohashi K, Sano S, Nagata E, Fukami M, Ogata T. Maml1 Deficiency Significantly Reduces mRNA Expression Levels of Multiple Genes Expressed in Mouse Fetal Leydig Cells but Permits Normal Genital and Reproductive Development. *Endocrinology* 2012 (in press)
 24. Nagasaki K, Tsuchiya S, Saitoh A, Ogata T, Fukami M. Neuromuscular Symptoms in a Patient with Familial Pseudohypoparathyroidism Type Ib Diagnosed by Methylation-Specific Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification. *Endocrine J* 2012 (in press)
 25. Fukami M. A Commentary on Association of variants in genes involved in environmental chemical metabolism and risk of cryptorchidism and hypospadias *J Hum Genet* 57: 405-406;2012
 26. Fukami M, Homma K, Hasegawa T, Ogata T. Backdoor pathway for dihydrotestosterone biosynthesis: Implications for normal and abnormal human sex development. *Dev Dyn.* 2012
 27. Ogata T, Sano S, Nagata E, Kato F, Fukami M. MAMLD1 and 46,XY disorders of sex development. *Semin Reprod Med.* 30: 410-416, 2012
 28. Li R, He P, Cui J., Staufenbiel M., Harada N, & Shen Y. Brain endogenous estrogen levels determine responses to estrogen replacement therapy via regulation of BACE1 and NEP in female Alzheimer's transgenic mice. *Mol. Neurobiol.*, doi:10.1007/s12035-012-8377-3, 2012
 29. Honda S.-I, Kozako T, Shimeno H, Soeda S, & Harada N. LIM-homeodomain transcription factor, Lhx2, is involved in transcriptional control of brain-specific promoter/exon 1f of the mouse aromatase gene. *J Neuroendocrinol.*, 24 (11), 1367-1374, 2012; doi: 10.1111 / j.1365-2826.
 30. Hanada T, Okuno K, Okada S, Fujimoto M, Kuranobu H, Hashida Y, Ueyama J, Murakami J, Hayashi A, Hanaki K, Kanzaki S. Castleman disease in a child with short stature. *Pediatr Int.* 2012 Oct ; 54(5):720-4.
 31. Kawashima Y, Higaki K, Fukushima T, Hakuno F, Nagaishi J, Hanaki K, Nanba E, Takahashi S, Kanzaki S. Novel missense mutation in the IGF-I receptor L2 domain results in intrauterine and postnatal growth retardation. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012 Aug;77(2):246-54.
 32. Tsunashima R, Naoi Y, Kishi K, Baba Y, Shimomura A, Maruyama N, Nakayama T, Shimazu K, Kim SJ, Tamaki Y, Noguchi S et al: Estrogen receptor

- positive breast cancer identified by 95-gene classifier as at high risk for relapse shows better response to neoadjuvant chemotherapy. *Cancer letters* 2012, 324(1):42-47.
33. Tominaga N, Naoi Y, Shimazu K, Nakayama T, Maruyama N, Shimomura A, Kim SJ, Tamaki Y, Noguchi S: Clinicopathological analysis of GATA3-positive breast cancers with special reference to response to neoadjuvant chemotherapy. *Annals of oncology* 2012, 23(12):3051-3057.
 34. 長田久夫, 生水真紀夫. 18婦人 避妊. 病気と薬パーフェクトブック 2012; 薬局 63(4)1005-1008
 35. 生水真紀夫. エストロゲン作用の新知見. *FUJI Infertility & Menopause News*. 2012.12; 15:1-3
 36. 深見真紀. アロマターゼ過剰症候群 内科 109 (6)、2012
 37. 深見真紀. 成長および成長障害のメカニズム 小児内科 44(4) : 507-511, 2012
 38. 深見真紀, 曾根田瞬, 加藤芙弥子, 花木啓一, 神崎晋, 大山建司, 佐野友昭, 西垣敏紀, 稲垣朱実, 高木博史, Gerhard Binder, 横谷進, 堀川玲子, 生水真紀夫, 緒方勤: アロマターゼ過剰症6家系の分子遺伝学的/臨床的解析: 新たな遺伝疾患発症機序とホルモン調節機構の解明. *ホルモンと臨床: 特集小児内分泌学の進歩2011*. 59: 27-32, 2012
 39. 深見真紀, 曾根田瞬, 矢澤隆志, 宮本薫, 緒方勤. チトクロームP450オキシドレダクターゼ (POR) 異常症の分子基盤: POR遺伝子発現制御機構の解明 生殖内分泌学会誌 2012 (印刷中)
 40. 五十嵐麻希, 深見真紀. 「性分化疾患の新知見: 新規男性ホルモン産生経路」. *医学のあゆみ* 241(10): 788-789, 2012.
 41. 深見真紀, 土屋 貴義, 生水真紀夫. アロマターゼ過剰症を招くゲノム微細構造異常の解明. *成長科学協会研究年報* (0386-7617)35:159-163(2012.08)
 42. Fukami M, Shozu M, Soneda S, Kato F, Inagaki A, Takagi H, Hanaki K, Kanzaki S, Ohyama K, Sano T, Nishigaki T, Yokoya S, Binder G, Horikawa R, Ogata T. Aromatase excess syndrome: identification of cryptic duplications and deletions leading to gain of function of CYP19A1 and assessment of phenotypic determinants. *J Clin Endocrinol Metab*; 96: E1035-1043, 2011
 43. 深見真紀, 緒方勤. 小児内分泌疾患とゲノムコピー数異常. *生体の科学*. 62(6): 546-551, 2011.
 44. 深見真紀, 曾根田瞬, 加藤芙弥子, 花木啓一, 神崎晋, 大山建司, 佐野友昭, 西垣敏紀, 稲垣朱実, 高木博史, Gerhard Binder, 横谷進, 堀川玲子, 生水真紀夫, 緒方勤. 遺伝性女性化乳房症6家系における疾患成立機序と臨床像の解明. *臨床内分泌 Update proceedings; 87(Supplement) : 94-97, 2011*
 45. 深見真紀, 曾根田瞬, 加藤芙弥子, 花木啓一, 神崎 晋, 大山 建司, 佐野 友昭, 西垣 敏紀, 稲垣 朱実, 高木 博史, Binder Gerhard, 横谷 進, 堀川 玲子, 生水真紀夫, 緒方 勤. 【小児内分泌学の進歩2011】 性成熟異常 アロマターゼ過剰症6家系の分子遺伝学的/臨床的解析 新たな遺伝疾患発症機序とホルモン調節機構の解明. *ホルモンと臨床*(0045-7167) 59(3) Page243-248 (2011.03)
 46. 本折 健, 川野 みどり, 生水真紀夫, 永井雄一郎, 下総 良太, 井上 幸平, 堀越 琢郎, 伊東 久夫. 不妊を主訴とした腔横中隔の1例. *臨床放射線* (0009-9252) 56(13): 1894-1897(2011.12)
 47. 深見真紀, 曾根田瞬, 加藤芙弥子, 花木啓一, 神崎 晋, 大山 建司, 佐野 友昭, 西垣 敏紀, 稲垣 朱実, 高木 博史, Binder Gerhard, 横谷 進, 堀川 玲子, 生水真紀夫, 緒方 勤. 遺伝性女性化乳房症6家系における疾患成立機序と臨床像の解明. *日本内分泌学会雑誌* (0029-0661)87(Suppl.): 94-97(2011.06)
 48. Bo Zang, 生水真紀夫, 原田信広. Insulin-like growth factor 1 enhances the aromatase P450 expression by inhibiting autophagy. *Endocrinol*; 151(10): 4949~4958, 2010
 49. 生水真紀夫, 碓井宏和. 子宮内膜症治療とアロマターゼ阻害剤. *産科と婦人科*; 77(7): 804~811, 2010
 50. 深見真紀, 曾根田瞬, 花木啓一, 大山建司, 佐野友昭, 西垣敏紀, 稲垣朱実, 高木博史, 生水真紀夫, 緒方勤. 遺伝性女性化乳房5家系における疾患成立機序と臨床像の解明 *日本内分泌学会雑誌*(0029-0661) 86(3): 742 (2010.12)

2. 学会発表

1. Makio Shozu and Tatsuya Kobayashi. Symposium 2 Non-androgenic steroids in the male: Organisation, function and relationship of aromatase promoters. 10th International Congress of Andrology (ICA), 2013/2/23-26(Melbourne)
2. Usui H, Shozu M. The polymorphism of folate metabolic enzyme genes may predict the outcome of methotrexate therapy for low-risk gestational trophoblastic neoplasia. International Federation of Placenta Associations Meeting 2012 (IFPA 2012 Hiroshima). 2012/9/18-21(Hiroshima)
3. Mitsuhashi A, Uehara T, Usui H, Yamazawa K, Shozu M. Therapeutic Doses of Metformin Suppresses Cell Proliferation of Endometrial Cancer in VIVO. 14th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society (IGCS). 2012/10/13-16 (Vancouver)
4. Makio Shozu, Takashi Uehara, Akira Mitsuhashi. Metformin, An Old Drug for a New Endocrine Therapy to Endometrial Cancer. 15th International Congress on Hormonal Steroids and Hormones & Cancer. 2012/11/15-17(Kanazawa)
5. Akira Mitsuhashi, Hirokazu Usui, Takashi Uehara, Shinichi Tate, Kyoko Nishikimi, Noriko Yamamoto, Makio Shozu. Metformin prevents recurrence after progestin therapy and improve insulin resistance for fertility-sparing treatment in young women with endometrial cancer or atypical endometrial hyperplasia. 15th International Congress on Hormonal Steroids and Hormones & Cancer. 2012/11/15-17(Kanazawa)
6. Takashi Uehara, Akira Mitsuhashi, Nobuhide Tsuruoka, Hisroshi Ishikawa, Hirokazu Usui, Koji Yamazawa, Makio Shozu. Metformin Combination with Cytotoxic Chemotherapeutic Agents in Endometrial Cancer Cell Line. 15th International Congress on Hormonal Steroids and Hormones & Cancer. 2012/11/15-17(Kanazawa)
7. 佐藤明日香、加藤一喜、山本憲子、錦見恭子、楯真一、碓井宏和、三橋暁、生水真紀夫. 臨床進行期4期成人型顆粒膜細胞腫の1例. 千葉産科婦人科学会平成23年度冬期学術講演会. 2012年1月28日(千葉)
8. 栗本ちえ子、尾本暁子、石川博士、岡山潤、井上万里子、田中宏一、長田久夫、生水真紀夫. 妊娠前の子宮卵管造影が原因と考えられた胎児巨大甲状腺腫の一例. 第10回千葉内分泌・代謝談話会. 2012年2月9日(千葉)
9. 生水真紀夫. 症例から学ぶ 産婦人科内分泌外来. 静岡市産婦人科医会 (一士会)講演会. 2012年3月7日(静岡)
10. 石川博士、王桂文、金谷裕美、川野みどり、木原真紀、生水真紀夫、瀬川智也、寺元章吉. 多嚢胞性卵巣症候群患者血漿を用いたメタボローム解析. 第85回日本内分泌学会学術総会. 2012年4月19日~21日(名古屋)
11. 石川博士、王桂文、曾根国瑞、川野みどり、木原真紀、生水真紀夫、大見健二. 子宮筋腫の免疫不全マウス移植モデルにおける、宿主と移植方法の検討. 第64回日本産科婦人科学会学術講演会. 2012年4月13日~15日(神戸)
12. 碓井宏和、木原真紀、加来博志、山本憲子、錦見恭子、加藤一喜、楯真一、三橋暁、生水真紀夫. Low-risk gestational trophoblastic neoplasiaに対するMTX療法の効果・副作用と葉酸代謝酵素遺伝子多型の関連~絨毛性腫瘍の個別化医療を目指して. 第64回日本産科婦人科学会学術講演会. 2012年4月13日~15日(神戸)
13. 生水真紀夫. アロマターゼの進化:なぜ胎盤で発現したか?. 東京医科歯科大学大学院特別講義. 2012年5月18日(東京)
14. 生水真紀夫. 子宮内膜癌のメトホルミン併用MPA療法. 第53回日本臨床細胞学会総会(春期大会). 2012年6月1日~3日(千葉)
15. 河原井麗正、石川博士、碓井宏和、川野みどり、金谷裕美、藤田真紀、岩本雅美、清川貴子、生水真紀夫. 著明な男性化兆候を示した卵巣顆粒膜細胞腫の1例. 第11回千葉内分泌・代謝懇話会. 2012年8月9日(千葉)
16. 生水真紀夫. エストロゲンと骨-思春期症例から学ぶ. 岐阜産科婦人科研究会. 2012年8月25日(岐阜)
17. 生水真紀夫. ステロイドホルモン今昔物語-考える愉しさ-. 2013年度産婦人科ランションセミナー. 2012年9月~10月(千葉)
18. 生水真紀夫. 女性のライフサイクルとエストロゲン-アロマターゼとのかかわり-. 第27回日本女性医学学会学術集会. 2012年10月13日(山形)
19. 生水真紀夫. 胎盤におけるアロマターゼ発現と性差構築. 第4回文部科学省科学研究費

補助金新学術領域研究「性差構築の分子基盤」
領域会議. 2012年10月15日～17日(和歌山)

20. 生水真紀夫. 骨とエストロゲン—思春期の症例に学ぶ—. 埼玉県産婦人科医会平成24年度後期学術集会. 2012年11月10日(埼玉)
21. 生水真紀夫. (続)症例から学ぶ内分泌. 第24回茨城不妊臨床懇話会. 2012年12月16日(茨城)
22. 深見真紀. 小児内分泌疾患診療に役立つ分子遺伝学の知識. 獨協医科大学越谷病院小児科セミナー. 2012年2月13日(越谷)
23. 深見真紀. アロマターゼ過剰症とゴナドトロピン分泌. 日本内分泌学会シンポジウム. 2012年4月26日(名古屋)
24. 深見真紀, 五十嵐麻希, 阿部修司, 山本幸代, 金城さおり, 緒方勤. 男性における乳房腫大(女性化乳房). 第46回小児内分泌学会 とっておきの症例. 2012年9月27-29日(大阪)
25. Fukami M, Shozu M, Soneda S, Kato F, Inagaki A, Takagi H, Hanaki K, Kanzaki S, Ohyama K, Sano T, Nishigaki T, Yokoya S, Binder G, Horikawa R, Ogata T. Aromatase Excess Syndrome Caused by Cryptic Duplications and Deletions Leading to Gain-of-Function of CYP19A1. ENDO annual meeting, June 4-7, 2011, (Boston)
26. Soneda S, Fukami M, Ogata T. Identification of the Promoter Region for Cytochrome P450 Oxidoreductase Gene. ENDO annual meeting, June 4-7, 2011, (Boston)
27. Fukami M, Shozu M, Soneda S, Kato F, Inagaki A, Takagi H, Hanaki K, Kanzaki S, Ohyama K, Sano T, Nishigaki T, Yokoya S, Binder G, Horikawa R, Ogata T. Aromatase excess syndrome: identification of cryptic duplications and deletions leading to gain-of-function of CYP19A1 and assessment of phenotypic determinants. 50th annual ESPE meeting, 25-28 September, 2011, (Glasgow)
28. Ogata T, Soneda S, Fukami M. Identification and characterization of the promoter region for cytochrome P450 oxidoreductase gene. 50th annual ESPE meeting, 25-28 September, 2011 (Glasgow)
29. 石川博士, 高谷具純, 中島名律子, 金谷裕美, 藤田真紀, 川野みどり, 木原真紀, 生水真紀夫. 思春期早発症をきたした卵巢原発性索間質腫瘍の1例. 第20回臨床内分泌代謝 Update 2011年1月28日～29日(札幌)
30. 深見真紀, 生水真紀夫, 花木啓一, 佐野友昭, 西垣敏紀, 稲垣朱実, 高木博史, 堀川玲子, 神崎晋, 大山建司, 緒方勤. エストロゲンによる間脳下垂体性腺系抑制機構の解明 アロマターゼ過剰症男性患者18例の分子遺伝学のおよび臨床的解析. 第84回日本内分泌学会学術総会. 2011年4月21日～22日(神戸)
31. 生水真紀夫. アロマターゼ活性とその調節. 日本アンドロロジー学会第30回学術大会/第17回精子形成・精巣毒性研究会. 2011年7月22日～23日(東京)
32. 生水真紀夫. 胎盤のアロマターゼが性差発現に果たす役割についての個体発生・系統発生学的研究. 新学術領域研究「性差構築の分子基盤」第3回領域会議. 2011年8月31日～9月2日(佐賀)
33. 生水真紀夫. Aromatase inhibitorsによる排卵誘発の展望. 第29回日本受精着床学会総会・学術講演会. 2011年9月10日(東京)
34. 生水真紀夫. 女性の生涯とアロマターゼ遺伝子. 第11回日本内分泌学会北海道地方会「女性医師専門医育成・再教育プロジェクト "JES We Can" 企画セミナー. 2011年10月1日(北海道)
35. 生水真紀夫. エストロゲンに纏わる新しい知見—アロマターゼがエストロゲンを合成するわけ—. 第5回阪神婦人科・内分泌研究会. 2011年11月5日(神戸)
36. 生水真紀夫. ゲノム進化の謎に挑む: なぜ胎盤にアロマターゼが発現したか?. 日本人類遺伝学会第56回大会・第11回東アジア人類遺伝学会. 2011年11月11日(千葉)
37. Shozu M. Hereditary diseases of CYP19A1 in human. 14th International Congress on Endocrinology. May 26, 2010 (Kyoto)
38. Shozu M. The Organization – functional relationship of CYP19A1. 14th International Congress on Endocrinology. May 26, 2010(Kyoto)
39. 深見真紀, 花木啓一, 大山建司, 佐野友昭, 西垣敏紀, 稲垣朱実, 生水真紀夫, 緒方勤. アロマターゼ過剰症5家系における染色体微細構造異常の同定 新たな遺伝疾患発症機序とホルモン調節機構の解明. 第15回日本生殖内分泌学会学術集会 2010年11月20日(大阪)
40. 生水真紀夫, 深見真紀. アロマターゼ過剰症. 第18回日本ステロイドホルモン学会 シンポジウム. 2010年11月27日(名古屋).