

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

総括研究報告書

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 千葉大学医学部生殖機能病態学教授

研究要旨

1983年から2010年の間に医学文献データベース医学中央雑誌に掲載された国内文献の調査を実施した。その結果、54症例の特発性女性化乳房症症例が報告されており、そのうち2症例に家族歴があり、遺伝性女性化乳房症の症例であることが確実に考えられたが、細胞遺伝学的診断は施行されていなかった。

文献調査から、わが国では女性化乳房症患者は外科・小児科・内科・形成外科で取り扱われていることが明らかとなった。そこで、これらの診療施設と医師を対象として、2010年に特発性女性化乳房症の実態把握のための全国アンケート調査(一次調査)を実施した。その結果、家族歴があり遺伝性女性化乳房症であることがほぼ確実に考えられた症例(カテゴリー1a)が23例、臨床像から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)が146例あることが判明した。情報が不足して判断ができない症例(カテゴリーX)42例およびカテゴリー1bについて二次調査を行い、最終的にカテゴリー1aが26症例、カテゴリー1bが155例となった。これらの症例のほとんどが細胞遺伝学的診断が試行されていない症例で、薬物療法も行われていなかった。1a症例はすべて18歳以下の発症例であった。

新たに開発して19番染色体CGH array、long range PCR、5'RACEを組み合わせた系統のアロマターゼ遺伝子変異スクリーニングにより、遺伝子重複などの新たな遺伝子変異が同定された。

今後、1aおよび1b症例を対象として遺伝性女性化乳房症細胞遺伝学的検査を実施することにより、早期診断治療の機会を提供することが重要と考えられた。

研究分担者

深見真紀・(独)国立成育医療センター研究所・室長

原田信広・藤田保健衛生大学医学部・教授

横田千津子・城西大学大学院薬学研究科・教授

花木啓一・鳥取大学医学部・教授

野口真三郎・大阪大学大学院医学系研究科・教授

A. 研究目的

遺伝性女性化乳房症は、男性に乳房の高度発育、低身長・性欲の低下、さらには精神的問題から社会的活動性の低下をきたす疾患である。女性にも発症

し、思春期早発症・巨大乳房・不正性器出血などの症状をきたす。

本症は、エストロゲン合成酵素(アロマターゼ)遺伝子の微細逆位による常染色体優性の単一遺伝子病である。このアロマターゼ遺伝子変異の結果、患者では全身の臓器・組織でアロマターゼが過剰に発現し、多量のエストロゲンが持続的に産生される。血中のエストロゲンが上昇し、乳腺の発育や思春期早発、骨端の早期閉鎖などの症状をきたす。

本症の病態が明らかとなったことから、アロマターゼ阻害剤による発症予防や治療の可能性が示された。すなわち、思春期前の時期からアロ

マターゼ阻害剤を投与することにより思春期早発、女性化乳房、低身長などの発症を予防することができる。しかしながら、本症の発症前診断は現状では行われていない。これは、本症が稀な疾患であること、新しい疾患概念で医療者にあまり周知されていないこと、本症を専門とする診療科がなく複数の診療科で個々に取り扱われていること、さらには診断確定に必要な遺伝学的診断を施行できるファシリテーターがないことなどによる。

そこで、わが国における女性化乳房症の患者の実態把握とその診断ファシリテーターの確立を目指した研究班を組織した。平成 22 年度は、まず本疾患患者の実態を把握することを目的として、文献調査とアンケート調査を実施した。

B. 研究方法

1. 文献調査

医学文献データベース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 2010 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。

2. アンケート調査

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、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を行った。乳腺外科領域(日本乳癌学会認定・関連施設、907 通)、形成外科領域(認定・教育関連施設、418 通)、小児科領域(小児内分泌学会会員、1178 通)、内科領域(日本内分泌学会認定教育施設、314 通)計 2817 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。

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変異(微細染色体逆位)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。今回の研究では、微細染色体逆位以外の構造異常も検出できるシステムの開発が必要であることから、アロマターゼ遺伝子の存在する 15 番

染色体についての CGH array を新たに作成した。CGH array により検出された遺伝子変異については、long range PCR 法などにより個別に変異の種類と位置の確認を行った。

4. 倫理審査

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. 文献調査

1-1 特発性女性化乳房症の症例数の推定

機械検索(女性化乳房)に 575 件がヒットした。タイトル・抄録を実際に確認し、女性化乳房と無関係のもの、症例報告ではないものを除外したところ、女性化乳房症例の報告は 300 件、うち女性化乳房の原因が推定されたものが 246 件となった。さらに個別文献記載内容を吟味したところ、特発性女性化乳房症が疑われる症例が 54 例認められた。このうち 2 例については、家族歴があることから遺伝性女性化乳房症であることがほぼ確実と考えられた。

1-2 女性化乳房症の原因として推定されていた疾患

今回のわれわれの文献調査で推定できる原因が見あたらなかった 54 例のうち、報告者が特発性女性化乳房と診断していたものは 5 例のみであった。

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、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(表 1)。特発性女性化乳房症の診断においては、これらの疾患の除外が必須であると考えられた。

表1 女性化乳房の原因 (医学中央雑誌1983~2010)

薬剤性	22	薬剤性	22
先天性	36	染色体異常	22
		酵素欠損症	4
		アンドロゲン受容体関連	10
神経筋疾患	39	神経筋疾患	39
腫瘍	66	肺癌、精巣腫瘍など	66
	43	男性乳癌	24
ホルモン異常	31	高プロラクチン血症	6
		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	54
特発性	54	特発性疑い	54

表2 特発性女性化乳房症 担当診療科 (医学中央雑誌1983~2010)

外科	22
小児科	11
形成外科	9
皮膚科	4
内科	2
小児外科	2
婦人科	1
不明	3

1-3 女性化乳房症の患者年齢分布

女性化乳房症の発症年齢は、新生児(2例)、乳児(7例)、幼児(3例)、小児(22例)、青年期(44例)、成人(71例)、中年(76例)、老年期(53例)、不明(22例)であった。加齢とともに患者数が増加する傾向がみられた。小児期から青年期にかけて患者数が明瞭な増加を示しており、これらの中に遺伝性女性化乳房症患者が主に含まれていると推定された。

1-4 女性化乳房症症例の診療担当科

女性化乳房症

女性化乳房症の報告を診療科別にみると、外科(66例)、内科(64例)、神経内科(41例)、小児科(29例)、泌尿器科(27例)、呼吸器科(26例)、形成外科(16例)、皮膚科(11例)、小児外科(6例)、精神科(2例)、放射線科(2例)、産婦人科(1例)であった。

特発性女性化乳房症

特発性女性化乳房症と診断されていた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(表2)。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ることから、以後のアンケート調査は外科・形成外科、小児科、内科を主な対象とすることで90%以上をカバーできるものと思われた。

1-5 特発性女性化乳房症の診療科

特発性女性化乳房症

女性化乳房症の報告を診療科別にみると、外科(22例)、内科(2例)、小児科(11例)、形成外科(9例)、皮膚科(4例)、小児外科(2例)、産婦人科(1例)であった。

特発性女性化乳房症の年齢分布

文献報告例を診断時年齢別にみると、乳児(4例)、小児(7例)、青年期(22例)、成人(9例)、中年(4例)、不明(9例)であった。女性化乳房症全例での分布とは大きく異なり、小児期・思春期に集中している傾向が明らかであった。

2. アンケート調査(一次調査)

2-1 特発性女性化乳房症の推定数

一次調査では、977通の返信があり、回収率は約1/3であった。

女性化乳房症の診療経験なしが791通、診療経験ありが186通であった。延べ症例数は304例となった。

2-2 遺伝性女性化乳房症の推定数

アンケートに記載された臨床情報に基づき、遺伝性女性化乳房症の可能性の高い順に5つのカテゴリーに分類して集計した(表3)。その結果、ほぼ遺伝性女性化乳房症であることが確実に考えられた症例(カテゴリー1a:家族歴があり発症年齢が25歳以前)が23症例あった。

表3 特発性女性化乳房症のアンケート調査(一次調査)結果

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	遺伝性AEXSの可能性がある	<25 記載なし	あり あり	— —	20 0	23 0
	b	AEXSの可能性がある(含孤発例)	<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	42	
合計					230	304	

また、遺伝性女性化乳房症の可能性が十分考えられる症例（カテゴリー1b：発症年齢が25歳以前、かつ、臨床的には生理的な思春期の乳房腫大が否定された症例）も146症例認められた。これらの症例のうち70例は、家族歴についての記載がなく、今後の追加調査が必要と考えられた。一方、76例については家族歴なしと記載されていた。これらの症例は家族性女性化乳房症の孤発例である可能性があり、確定診断のための遺伝子検査が必要と考えられた。

2-3 遺伝性女性化乳房症と推定された症例の年齢分布

図1に、診断時の患者年齢と患者数の関係を示す。

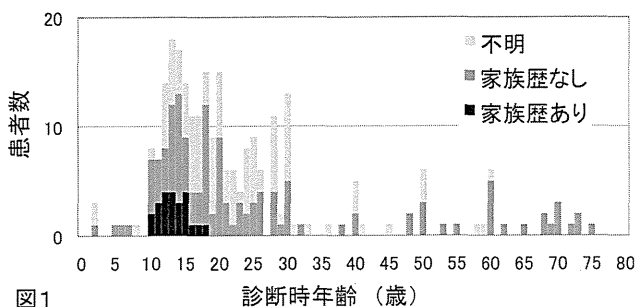


図1 家族歴があり遺伝性女性化乳房症であることが確実に考えられた症例（カテゴリー1a）は、すべて18歳以下で診断されていた。一方、家族歴のなかった症例の診断時年齢には、思春期発症のピークと、20～30歳の青年期のピーク、50歳以降の高年者のピークが認められた。思春期発症のピークには、遺伝性女性化乳房症が含まれている可能性があるものの、思春期の生理的乳房肥大症例も含まれている可能性も考えられた。

2-4 遺伝性女性化乳房症と推定された症例の地域分布

今回の調査では、少なくとも2つの地域で近接した施設から複数例の遺伝性女性化乳房症と思われる患者の報告があった。これらの患者の発症年齢などの臨床情報から、同一家系内発症例である可能性が示唆された。その他の症例は、本州の各地域に分散していた。

3. アンケート調査（二次調査）

遺伝性女性化乳房症の可能性のある症例（カテゴリー1b：発症年齢が25歳で家族歴がないまたは不明症例）146症例と、臨床情報が不十分で本疾患の

可能性が否定できない症例（カテゴリーX：情報の記載が欠如）42症例を対象に、臨床情報詳細アンケート調査（家族歴、既知の原因疾患の有無、乳房の状態、ホルモン値）を実施した。その結果、65例（51施設）からの返信があった。記載された情報から、カテゴリー1b（157例中53例返信あり）とカテゴリーX（42例中12例返信あり）から、それぞれ2例と1例がカテゴリー1a（遺伝性女性化乳房症の疑い例）と判定された。さらに、カテゴリーXから10例があらたに1bと判断された。二次調査までの結果を総合すると、カテゴリー1aは合計26例となった。

4. 遺伝子検査

遺伝性女性化乳房症と推定された患者検体について、CGH array および long range PCR 法、FISH 法を用いて、細胞遺伝学的診断を試みた。その結果、遺伝子重複、遺伝子欠失など新たな遺伝子変異を検出することができた。

D. 考察

今回のアンケート調査では、内分泌専門医指導施設、乳腺疾患専門診療施設、小児内分泌専門医に対してそれぞれアンケートを送付した。したがって施設によっては、内科医・外科医・小児科医など複数の医師に対して重複して調査票が送られている。これは、症例の発掘を主眼に置いて症例のカバー率を高くすることを目指したためである。実際のカバー率がどのくらいであるかを示すデータはないが、特定の地域に同一家系と推定される遺伝性女性化乳房症の患者が集積している様子が明らかになったことなどからみて、比較的高いカバー率であったものと推定される。

仮にアンケート調査のカバー率を100%とすると、遺伝性女性化乳房症の患者はわが国に20～180名の幅で存在すると推定された。このうち、およそ20名が家族性女性化乳房症であることがほぼ確実な症例であったが、その他の症例については孤発例の可能性のあるものと考えられた。これらの症例では、今後の細胞遺伝学検査が必須である。

今回のアンケート調査結果から、遺伝性女性化乳房症はすべて思春期に症状が発現していることが明らかとなった。診断基準の作成に当たり、発症年齢

を18歳(20歳)とすることの妥当性が示された。

遺伝性女性化乳房症と思われる症例は、小児内分泌科のほか乳腺外科、内科、形成外科などの診療科で取り扱われており、専門とする診療科がない実態が明らかとなった。われわれのグループが細胞遺伝学的診断にたずさわった数症例を除き、細胞遺伝学的確定診断は行われておらず、早期発見治療のために、本症の診断支援ファシリティーが必要であることが改めて明らかとなった。

E. 結論

わが国には、20~180名の遺伝性女性化乳房症の患者がいるものと推定された。確定診断されている症例はほとんどなく、発症前診断も治療も行われていない。早期診断のための診断ファシリティーの確立が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表(代表者分)

1. 論文発表

1. ○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. 2011 Apr 6. [Epub ahead of print]

2. Nohata N, Sone Y, Hanazawa T, Fuse M, Kikkawa N, Yoshino H, Chiyomaru T, Kawakami K, Enokida H, Nakagawa M, Shozu M, Okamoto Y, Seki N. miR-1 as a tumor suppressive microRNA targeting TAGLN2 in head and neck squamous cell carcinoma. Oncotarget. 2011 Jan-Feb ; 2(1-2) : 29-42.

3. Nakamura M, Mitsuhashi A, Tanaka N, Nagai Y, Shozu M. Solitary metastasis of a clear cell ovarian adenocarcinoma to the small bowel mucosa. J Obstet Gynaecol Res. 2011 Apr ; 37(4) : 366-9. Doi : 10.1111/j.1447-0756.2010.01355.x. Epub 2011 Jan 27.

4. Usui H, Kaku H, M Kihara, Shozu M. Molecular distinction of consecutive molar pregnancies. Obstet

Gynecol 2011 ; 117 : 492-495

5. Mitsuhashi A, Uno T, Usui H, Tate S, Hirashiki K, Kato K, Kiyohara H, Kato S, Ito H, Shozu M Postoperative Concurrent Ddaily Low-dose Cisplatin-based Chemoradiation Improves the Prognosis of Patients with Pathologic T2b or N1 Cervical Cancer. Anticancer Research.2010 ; 30 : 2341-46

6. Nishikimi K, Habuka, N, Okazima Y, Tate S, Nagai Y, Nakano M, Okawa, , Shozu M, Cytological findings of low-grade endometrial stromal sarcoma with sex cord like differentiation. Acta cytologica 2010 ; 54 : 85-88

7. ○Zhang B, Shozu M, Okada M, Ishikawa H, Kasai T, Murakami K, Nomura K, Harada H, Inoue M. Insulin-like growth factor 1 enhances the aromatase P450 expression by inhibiting autophagy, Endocrinol. 2010 Oct ; 151(10) : 4949-58

8. Baasanjav B, Usui H, Kihara M, Kaku H, Nakada E, Tate S, Mitsuhashi A, Matsui H, Shozu M The risk of post-molar gestational trophoblastic neoplasia is higher in heterozygous than in homozygous complete hydatidiform moles. Human Reproduction 2010 May ; 25(5) : 1183-91.

9. 生水真紀夫. 婦人科疾患におけるホルモン療. Medical Technology(0389-1887) 38 巻 4 号 Page407-411 (2010.04)

10. ○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 2010年7月 ; 77(7) : 804-811

2. 学会発表

1. Shozu M. Hereditary diseases of CYP19A1 in human. 14th International Congress on Endocrinology. March 26, 2010, Kyoto

2. Shozu M. The Organization – functional relationship of CYP19A1. 14th International Congress on Endocrinology. March 26, 2010, Kyoto

3. 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

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 平成22年11月20日 大阪市 日本内分泌学会雑誌(0029-0661) 86巻2号 Page444(2010.09)

4. 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 平成23年1月28日～29日、札幌市 日本内分泌学会雑誌(0029-0661) 86巻3号 Page741(2010.12)

5. 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巻3号 Page742 (2010.12)

6. 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. 平成22年11月27日、名古屋市 日本内分泌学会雑誌(0029-0661) 86巻2号 Page 385 (2010.09)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

わが国における遺伝性女性化乳房の実態把握のための文献調査

研究代表者 生水真紀夫 千葉大学医学部生殖機能病態学教授
研究協力者 碓井宏和 千葉大学医学部生殖機能病態学助教
研究分担者 原田信宏 藤田保健衛生大学医学部生化学教授
研究分担者 横田千津子 城西大学大学院薬学研究科教授

研究要旨

1983年から2010年の間に医学文献データベース医学中央雑誌に掲載された国内文献の調査を実施した。その結果、575件のヒットがあり、重複例などを除き275件の女性化乳房症例の報告があった。女性化乳房症の原因を文献記載から分類したところ、54症例が原因不明、すなわち特発性女性化乳房症と考えられた。

特発性症例54例のうち2症例に家族歴の記載があり、遺伝性女性化乳房症の症例であることが確実と考えられた。いずれも、細胞遺伝学的診断は施行されていなかった。

特発性54例のうち22例が外科を受診していたが、特発性の診断は小児科で行われている例が多かった。また、54例中19例（35%）が乳房縮小術を受けていた。医療機関の受診は、青年期が21例で最も多く、60%が20歳前に受診していた。

以上から、わが国においては50名程度の遺伝性情勢下乳房症の患者が存在していた可能性があること、小児科および外科を中心とした調査が適切であると考えられること、受診もしくは発症年齢が成人である症例は調査対象から外して良いことがあきらかとなった。

A. 研究目的

遺伝性女性化乳房症は、性腺外組織によるエストロゲン産生過剰のため男性に女性化乳房・低身長などをきたす疾患である。伴性劣性遺伝形式と考えられた症例なども過去には報告されているものの、最近の報告は常染色体優性遺伝形式の症例のみである。したがって、女性にも発症し、この場合には思春期早発症・巨大乳房・不正性器出血などの症状をきたす。

本症は、極めて稀な疾患であるが過去には本症例に該当すると思われる症例の報告もあり、その実態は不明である。本症の疾患概念は、医療者にあまり周知されておらず、本症を専門とする診療科もないことから、本症は複数の診療で取り扱われていると思われた。

そこで、今回の研究では、本症を取り扱っている施設・診療科のおおよそを把握し、アンケート調査の対象を絞り込むことを目的として文献調査を実施した。

B. 研究方法

医学文献データベース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2010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。ヒットした文献を個別に調査し、文献記載から推定原因を集計した。

（倫理面への配慮）

特になし。

C. 研究結果

1. 女性化乳房症の症例数の推定

機械検索（女性化乳房）に 575 件がヒットした。タイトル・抄録を実際に確認し、女性化乳房と無関係のもの、症例報告ではないもの、さらに重複報告と思われるものを除外したところ、女性化乳房症例の報告は 300 件となった（図 1）。この 300 件の症例について、女性化乳房の原因別に集計したところ、うち女性化乳房の原因が推定されたものが 246 件あり、特発性女性化乳房症が疑われる症例が 54 例認められた（図 2、表 1）。

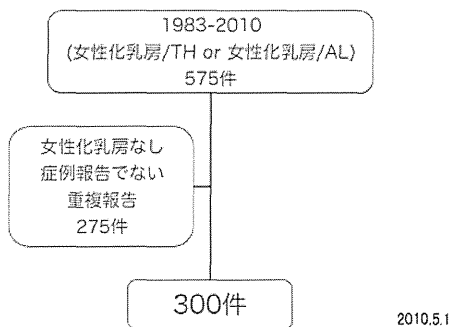


図1. 医学中央雑誌“女性化乳房”

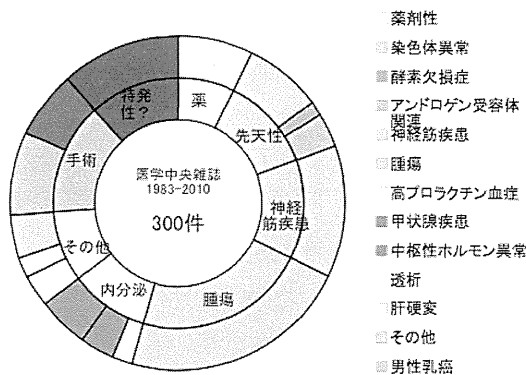


図2. 文献で推定されていた女性化乳房の原因

さらに個別文献記載内容を吟味したところ、2 例については、家族歴があることから遺伝性女性化乳房症であることがほぼ確実と考えられた。

2. 女性化乳房症

2-1 女性化乳房症の原因疾患

2 次性女性化乳房症の原因と推定された原因の詳細分類を表 2～6 に示す。

薬剤性と推定された症例では、降圧剤のほか向精神薬、アンドロゲン拮抗剤などが多くみられた。神

表1 文献で推定されていた女性化乳房の原因

薬剤	22	薬剤性	22
先天性	36	染色体異常	22
		酵素欠損症	4
		アンドロゲン受容体関連	10
神経筋疾患	39	神経筋疾患	39
腫瘍	66	腫瘍	66
		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
		男性乳癌	24
乳腺腫瘍		(手術あり)	19
特発性疑い	54	(手術なし)	35

表2. 薬剤性女性化乳房症の原因薬剤

アルドステロン拮抗薬	3
抗HIV薬	1
降圧剤	3
高脂血症	1
抗精神薬	3
ステロイド	2
制酸剤	2
前立腺癌	4
牛車腎気丸	1
牛乳	1
MTX	1

経筋変性疾患（球脊髄性筋萎縮症・Crow-Fukase 症候群）もそれぞれ 22 例、11 例と多かった。先天性疾患としては、Klinefelter が 17 例、46XX 男性が 5 例、アンドロゲン不応症が 10 例認められた。乳腺外腫瘍によるものとしては、肺癌が 21 例、精巣腫瘍が 10 例と最も多く報告されていた。また、副腎腫瘍も 4 例認められた。精巣腫瘍や副腎腫瘍は、ときにエストロゲン産生性であることが認識されてきた疾患である。肺癌については、比較的最近になってアロマターゼ発現の高い腫瘍が存在することが報告されるようになってきている。したがって、これらの腫瘍では腫瘍が産生するエストロゲンが直接の原因となっている可能性があるものと推定される。エストロゲン産生腫瘍の原因となることが知られている Peutz-Jeghar 症候群は 1 例のみ報告されていた。一方で、腫瘍が認められた女性化乳房症の症例のうちエストロゲン産生性と推定されていたのは僅かに

表3. 先天性女性化乳房症とされた症例の内訳

染色体異常	Klinefelter	17
	46,XX male	5
酵素欠損症	3β-HSD欠損症	1
	21-hydroxylase欠損症	2
	17α-hydroxylase欠損症	1
アンドロゲン受容体関連	アンドロゲン不応症	10

表4. 神経筋疾患による女性化乳房症と考えられた症例の内訳

球脊髄性筋萎縮症 (Kennedy-Alter-Sung症候群)	22
POEMS症候群 (Crow-Fukase症候群)	11
筋強直性ジストロフィー	4
ミトコンドリア脳筋症	1
筋ジストロフィー	1

3例のみであった。

内分泌疾患としては、プロラクチン産生腫瘍が6例で、甲状腺機能亢進症が9例、低ゴナドトロピン性性腺機能低下症が6例報告されていた。

2-2 女性化乳房症の患者年齢分布

女性化乳房症の発症年齢は、新生児(2例)、乳児(7例)、幼児(3例)、小児(22例)、青年期(44例)、成人(71例)、中年(76例)、老年期(53例)、不明(22例)で、1/4が思春期までの発症であった(図3)。

加齢とともに患者数は増加する傾向がみられたが、小児期から青年期にかけて患者数が明瞭な増加を示しており、これらの中に遺伝性女性化乳房症患者が主に含まれていると推定された。

2-3 女性化乳房症症例の診療担当科

女性化乳房症の報告を診療科別にみると、外科(66例)、内科(64例)、神経内科(41例)、小児科(29例)、泌尿器科(27例)、呼吸器科(26例)、形成外科(16例)、皮膚科(11例)、小児外科(6例)、精神科(2例)、放射線科(2例)、産婦人科(1例)であった(表7)。

表5. 乳腺外腫瘍によると考えられた女性化乳房症の内訳

HCG産生腫瘍	絨癌	10
	胃癌	3
	精巣腫瘍	1
	尿管移行上皮癌	1
絨毛癌	胃癌	5
	腎臓腫瘍	4
	膵臓癌	2
	精巣腫瘍	1
精巣腫瘍	精巣腫瘍	10
	精巣腫瘍	2
膵臓内	膵臓腫瘍	1
	胃癌	1
エストロゲン産生腫瘍	精巣腫瘍	1
	副腎腫瘍	1
副腎腫瘍	副腎腫瘍	4
	肝細胞癌	fibrolamellar hepatocellular carcinoma
Pouzar-Jeghers症候群	悪性リンパ腫	2
	悪性胸腺腫	1
	肺癌	3
	膵臓癌	1
	多発性内分泌腫瘍	2

表6. ホルモン異常によると考えられた女性化乳房症

高プロラクチン血症	6	
甲状腺疾患	甲状腺機能亢進症	9
	無痛性甲状腺炎	1
中枢性ホルモン異常	ACTH単独欠損症	3
	GH分泌不全症	3
	高ゴナドトロピン血症	3
	低ゴナドトロピン性性腺機能低下症	6

3. 特発性女性化乳房症

3-1 特発性および遺伝性女性化乳房症例数

先にのべたように、特発性女性化乳房症と考えられた症例は54症例あったが、このうち報告者が特発性女性化乳房と診断していたものは5例のみであった。さらに、2例に明らかな家系内発症例が認められ、遺伝性特発性女性化乳房症の可能性が極めて高いと考えられた。特発性女性化乳房症とされた中に、詳細な家族歴の記載の無いものが多く、今回の調査では家族内発症について見逃されている症例がある可能性が十分考えられた。

3-2 特発性女性化乳房症症例の取り扱い診療科

特発性女性化乳房症と診断されていた54症例に限ってみると、取り扱い診療科は外科、小児科、形成外科、皮膚科、小児外科、内科などであった(表8)。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ることから、今後のアンケート調査は外科・形成外科、小児科、内科を主な対象とすることで90%以上をカバーできるものと思われた。

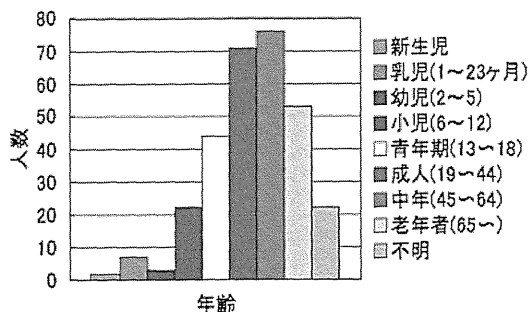


図3. 女性化乳房症の受診年齢分布

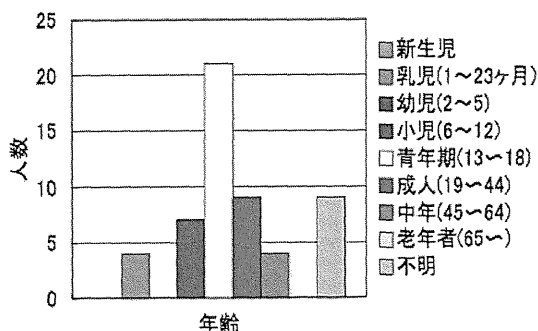


図4. 特発性女性化乳房症の受診年齢分布

3-3 特発性女性化乳房症の年齢分布

文献報告例を診断時年齢別にみると、乳児(4例)、小児(7例)、青年期(22例)、成人(9例)、中年(4例)、不明(9例)であった。女性化乳房症全例での診断時年齢分布とは大きく異なり、小児期・思春期に集中している傾向が明らかであった(図4)。

D. 考察

データベースからの検索が可能であったおよそ30年間のわが国における文献調査から、特発性女性化乳房症と考えられる症例は54例あり、そのうち2例が明らかな遺伝性女性化乳房症症例であった。原因と推定される疾患が見あたらない症例においても、遺伝性疾患を意識した特発性女性化乳房症の病名をもちいて報告していた報告は1/10以下であった。このことは、本症に認知度が低いことと関連していると推定された。

特発性女性化乳房症の多くは外科、小児科、形成外科などを受診していた。アンケート調査では、これらの診療科をカバーした調査対象とするのがよいと考えられた。

表7. 女性化乳房症の取り扱い診療科

外科	66
内科	64
神経内科	41
小児	29
泌尿器	27
呼吸器	26
形成	16
皮膚	11
小児外	6
精神	2
放射線	2
婦人	1
不明	9

表8. 特発性女性化乳房症の取り扱い診療科 (医学中央雑誌1983-2010)

外科	22
小児科	11
形成外科	9
皮膚科	4
小児外科	2
内科	2
婦人科	1
不明	3

特発性女性化乳房症の診断時年齢は青年期に集中していた。この年齢分布は、女性化乳房症全体の分布と大きく異なるものであった。すなわち、女性化乳房症全体では、薬剤性や年齢性、あるいは腫瘍などによる2次性の女性化乳房症が多く含まれ、これらの多くが成人発症であることを示している。これに対し、特発性症例は、そのほとんどが青年期発症であった。この分布は、遺伝性女性化乳房症が前思春期から思春期に欠けて発症するという海外例での知見とほぼ一致するものであった。なお、今回の文献報告例には、生理的乳房肥大と間違えられた症例は含まれていない。アンケート調査では、成人発症例を除いて調査することが妥当と思われる結果であった。

E. 結論

1983年から2010年の本邦文献では、54名の特発性女性化乳房症の患者が報告されていた。確定診断されている症例はほとんどなく、発症前診断は行われていなかった。いずれも青年期の発症であった。

F. 研究発表 (協力者・分担者分)

1. 論文発表

1. Usui H, Kaku H, M Kihara, Shozu M. Molecular distinction of consecutive molar pregnancies. *Obstet Gynecol.* 2011 Feb ; 117 (2 Pt 2) : 492-5

2. Mitsuhashi A, Uno T, Usui H, Tate S, Hirashiki K, Kato K, Kiyohara H, Kato S, Ito H, Shozu M Postoperative Concurrent Ddaily Low-dose Cisplatin-based Chemoradiation Improves the Prognosis of Patients with Pathologic T2b or N1 Cervical Cancer. *Anticancer Research.*2010 ; 30 : 2341-46

3. Baasanjav B, Usui H, Kihara M, Kaku H, Nakada E, Tate S, Mitsuhashi A, Matsui H, Shozu M The risk of post-molar gestational trophoblastic neoplasia is higher in heterozygous than in homozygous complete hydatidiform moles. *Human Reproduction* 2010 May ; 25(5) : 1183-91.

4. McAllister C, Long J, Bowers A, Walker A, Cao P, Honda S, Harada N, Staufenbiel M, Shen Y, Li R. Genetic targeting aromatase in male amyloid precursor protein transgenic mice down-regulates β -secretase (BACW1) and prevents Alzheimer-like pathology and cognitive impairment. *J Neurosci.* 2010 May 26 ; 30(21) : 7326-7334.

5. Yarim M, Gulbahar MY, Guvenc T, Karahan S, Harada N, Kabak YB, Karayigit MO. Aromatase expression in the cerebellum of the dog infected with canine distemper virus. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2010 Jul-Aug ; 123(7-8) : 301-306.

6. Aste N, Watanabe Y, Harada N, Saito N. Distribution and sex differences in aromatase-producing neurons in the brain of Japanese quail embryos. *J Chem Neuroanat.* 2010 Jul ; 39(4) : 272-288.

7. Juntti S.A, Tollkuhn J, Wu M.V, Fraser E.J, Soderborg, T, Tan S, Honda S-I, Harada N, & Shah N.M. The androgen receptor governs execution but not programming of male sexual and territorial behaviors. *Neuron* ; 66(2) : 260-272, 2010

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

女性化乳房症の文献調査および全国実態調査（アンケート調査）

研究協力者 碓井宏和 千葉大学医学部生殖機能病態学助教
 研究分担者 花木啓一 鳥取大学医学部教授
 研究分担者 野口眞三郎 大阪大学大学院医学系研究科教授

研究要旨

遺伝性女性化乳房症のわが国における実態を把握するために全国実態調査（アンケート調査）を行った。文献調査から、女性化乳房症は、小児科・外科・形成外科・内科等、広範な診療科で担当されていることが明らかになった。またアンケートによる全国実態調査により、18家系20例の遺伝性女性化乳房症患者の存在が判明した。家族歴はないものの、若年発症で孤発性のアロマターゼ過剰症の可能性がある女性化乳房症例も150例報告された。遺伝性女性化乳房症は大部分が思春期に発症していた。

A. 研究目的

遺伝性女性化乳房（HG、別名：アロマターゼ過剰症 AEXS）は、稀な疾患であり、新しい疾患概念であるため、医療者に十分周知されていない。本症を専門とする診療科がなく小児科・内科・外科・産婦人科など複数の診療科で別々に取り扱われているのが現状である。そこで、わが国における遺伝性女性化乳房症の実態を把握し、診断指針を作成するために、全国実態調査（アンケート調査）を行った。

B. 研究方法

1. 全国実態調査（一次調査）

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、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、907通）、形成外科領域（認定・教育関連施設、418通）、小児科領域（小児内分泌学会会員、1178通）、内科領域（日本内分泌学会認定教育施設、314

通）計2817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（図1～4）。

女性化乳房の原因(抜粋)

生理的	A. 思春期など	新生児、思春期
症候性ないし続発性	B. 染色体異常	Klinefelter 症候群、XX 男性、Swyer 症候群、その他
	C. 酵素欠損症	3β-HSD 欠損症、21-hydroxylase 欠損症、17α-hydroxylase 欠損症、その他
	D. アンドロゲン受容体関連	アンドロゲン不応症、その他
	E. 神経筋疾患	鎌倉髄性筋萎縮症（Kennedy-Alter-Sung 症候群）、PEMIS 症候群（Crow-Fukase 症候群）、その他
	F. 悪性腫瘍	hCG 産生腫瘍、絨毛癌、精巣腫瘍、胚細胞性腫瘍、エストロゲン産生腫瘍、副腎腫瘍、その他
	G. 内分泌疾患	甲状腺機能亢進症、低ゴナドトロピン性腺機能低下症、その他
	H. 肝疾患	肝硬変、その他
	I. 腎疾患	透析、その他
	J. 薬剤性	アルドステロン拮抗薬、降圧剤、長精神薬、制癌剤、ホルモン剤、その他 (male to female などを含む)
	特発性ないし原発性	K. 特定の原因（上記）が見当たらない

図1 女性化乳房の原因

調査対象の範囲

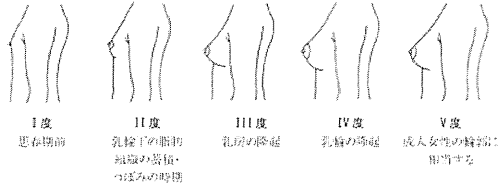
この用紙に対する回答はありません

回答に迷ったときにお読み下さい

- 女性化乳房の患者（男性）のうち、遺伝性と推定される患者（アロマターゼ過剰症の疑いがあります）が対象です。年齢の高齢者がいない病例もあると思われるので、特発性女性化乳房症（原因不明のもの）を含めて調査しています。
- 以下の条件を満たす病例です。原因の明らかでないもの、思春期男性の二次性乳房腫大などは除きます。
- 判断に迷う場合は、対象に含まれて回答して下さい。
- 遺伝性（近親者に罹患者がいる）は、問いません。遺伝性がある場合もない場合も、はっきりしない場合も含めて下さい。

Inclusion Criteria

Tanner 分類 II 度以上の乳房発育がある



肝臓変など既知の原因（別表）が見あたらない

乳房腫大が両側性である（片側性でない）

乳房腫大が持続している（一過性でない）

発症年齢が 30 歳未満

図 2 一次調査アンケート（説明）

回答票（質問は緑紙にあります。この票をご返送ください）

- I. これまでの診察経験 どちらかに○印
 特発性もしくは遺伝性女性化乳房症を診察したことが… ない あり
 IV. に進んでください。 II. に進んでください。

II. 最近の症例数

最近 1 年間で診察した症例数 件

2005 年以降の 5 年間で診察した症例数 およそ 件

III. 特発性ないし遺伝性女性化乳房症例の概要

(おとその) 初診年度	(おとその) 発症年齢	近親者に女性化乳房患者が…	特記事項などありましたらご記入下さい
1		いる ・ いない ・ 不明	
2		いる ・ いない ・ 不明	
3		いる ・ いない ・ 不明	
4		いる ・ いない ・ 不明	
5		いる ・ いない ・ 不明	
6		いる ・ いない ・ 不明	

6 例以上の場合は、計算用紙をコピーしてご記入下さい。

IV. ご施設名・記入者ご氏名をご記入下さい。

御施設名(診療科名) ※詳しく記入して下さい	〒 <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	連絡先(電話番号など)ご記入下さい
記入者 お名前		

図 4 一次調査アンケート（回答票）

質問票（答えは赤紙回答票に記入して下さい）

- I. 以下の 5 条件を満たす特発性ないし遺伝性女性化乳房症の患者を診察もしくは治療したことがありますか？（先生以外の医師が診察している患者さんも含め、診療科を代表してお答え下さい。）

- ① Tanner 2 度以上
- ② 明らかな原因がない
- ③ 両側性の腫大
- ④ 持続性の腫大
- ⑤ 30 歳未満で発症

（説明が足りないときは、別紙「調査対象の範囲」をお読み下さい。）

- II. 質問 I で、経験がある「ある」を選択した方にお知らせします。

最近 1 年間で診察した症例数 は何件ですか？

2005 年以降の 5 年間で診察した症例は何件ですか？

- III. 2005 年以降に診察した患者について、初診の年度と年齢、遺伝性の有無を記入して下さい。記憶しているおおよその情報で記入していただいて差し支えありません。

（2005 年以前の症例を記載していただいても差し支えありません。おおよその年度とともに記載して下さい。）

- IV. ご施設名とお名前をご記入下さい。

ご協力ありがとうございました。お手数ですが、この回答票を返信用封筒に入れて投函して下さい。締め切りは、6 月 0 日です。

図 3 一次調査アンケート（質問票）

二次調査回答票（施設名）

() 先生 () 先生 ()

1) 識別記号			
2) 乳房腫大 発症年齢 () 歳ごろ 現在の程度 Tanner 分類 度 (別紙(別表))			
3) 初診年齢 () 歳 初診: 年 月 日 年次別: 年 月 日		4) 直近の受診日: 年 月 日	
5) 家族歴 3 親等以内の情報を確認して、そのおおよその有無を 60% の割合で記入して下さい。	女性化乳房なし: <input type="checkbox"/> あり: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 発端者 <input type="checkbox"/> 詳しいが <input type="checkbox"/> 不明 <input type="checkbox"/> 未詳 <input type="checkbox"/> 15歳 <input type="checkbox"/> 19歳 <input type="checkbox"/> 11歳	
6) その他の情報・ホルモン検査種・症状・合併症など E2 () , FSH () , LH () , Testosterone (ng/ml or ng/dl) , その他			
7) 患者・家族とのコンタクト	連絡可能	連絡が取れない	連絡が取れるかもしれない
8) 遺伝子解析のための血液採取を患者に依頼することは可能ですか？	可能	したくない	できない
		その他 (記述)	

図 5 二次調査（回答票）

2. 個別調査（二次調査）

一次調査で回答のあった症例を、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、孤発性アロマト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。

遺伝性女性化乳房症の可能性が否定しきれない188症例（カテゴリー1bおよびカテゴリーX）に対して二次調査を行った。141施設に二次調査票を発送した。家族歴（家系図を含む）、既知の原因疾患の有無、乳房の状態、ホルモン値などの症例の詳細を質問した（図5）。

一次調査でカテゴリー1aに該当した症例（遺伝性女性化乳房症であることがほぼ確実である症例）に対しては、臨床症状・家族歴・発症年齢・検査値などの臨床情報、遺伝子検査の可否を含めて担当医から直接聞き取り調査を行った。

（倫理面での配慮）

本研究は、アンケート調査・遺伝子解析を含めて、千葉大学生命倫理委員会の承認を受けている。アンケートの実施にあたっては、各医療機関で個人識別情報をなくして匿名化した後に、返送するよう依頼した。

C. 研究結果

1. 特発性女性化乳房症の全国実態調査（一次調査）

一次調査アンケート発送 2817 通のうち、返信数は 961 通であり、特発性女性化乳房の延べ症例数は 301 例であった（表1）。返信された特発性女性化乳房症の発症年齢の分布を、家族歴の有無を含めて検討した（図6）。家族歴のある症例の発症年齢の中央値は13歳であった。301例全体の発症年齢の中央値は19歳であった。

家族歴の有無、および発症年齢（25歳）により返信症例をカテゴリー分類した（表2）。今回の調査の結果、家族歴を有する女性化乳房症で症状の発現が最も遅かったのは18歳発症例であった。

表1 全国実態調査（1次調査）

発送数	2817通
返信数	961通
「症例なし」と返信	781通
「症例あり」と返信	180通
特発性女性化乳房症の延べ症例数	301例
（明らかな2次性巨大乳房症）	9例

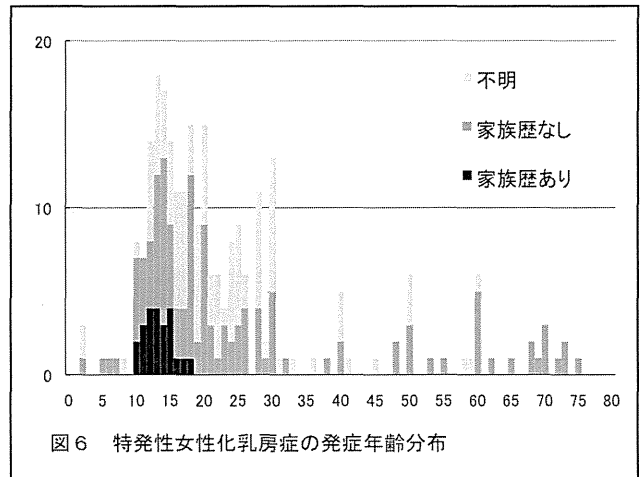


図6 特発性女性化乳房症の発症年齢分布

表2 1次調査：カテゴリー別の報告症例数

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 遺伝性AEXSの可能性がある	<25	あり	—	19	22
	b AEXSの可能性がある(含孤発例)	<25	なし or 不明	—	118	144
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	42
合計					230	304

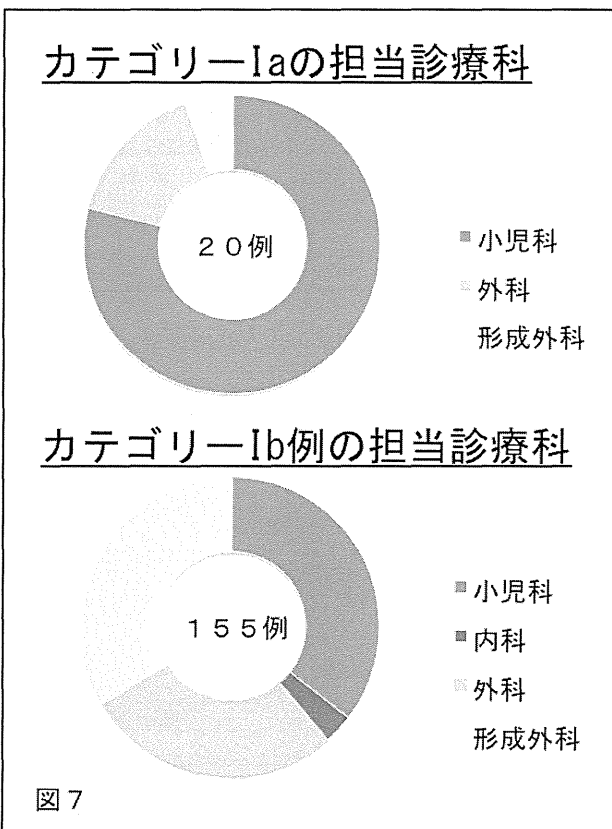
2. 特発性女性化乳房症の個別調査（二次調査）

二次調査票を発送した188例のうち、68例（51施設）の返信があった。カテゴリー1bでは157例中53例の返信があり、うち2例では家族歴があることが判明した。またカテゴリーXでは42例中12例の返信があり、うち1例では家族歴があることが新たに判明した。

一次調査で、カテゴリー1aに該当した症例（遺伝性女性化乳房症であることがほぼ確実である症例）の聞き取り調査から、報告症例の中には重複報告となっている症例があることが分かり、これらの症例を整理すると、遺伝性女性化乳房症（カテゴリー1a）は18家系20症例となった。また家族歴はないが、若年発症の特発性女性化乳房症（カテゴリー1b）での報告は155例となった。

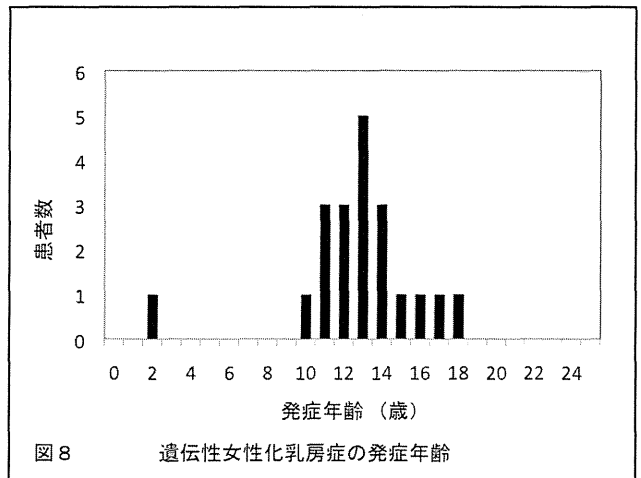
特発性女性化乳房症例を担当診療科別に見ると、カテゴリー1b例では、小児科、外科、形成外科がそれぞれ三分の一ずつを占めていたが、カテゴリー1a（HGがほぼ確実）の大部分（16例/20例）は小児科からの報告であった（図7）。遺伝性女性化乳房症の発症は思春期に集中していた（図8）。

遺伝性女性化乳房症と推定される患者の地域分布は、関東地方より西に分布していた（図9）。



D. 考察

わが国の遺伝性女性化乳房症の実態調査をはじめて行った。現時点で18家系20症例が把握された。また、家族歴はないものの、若年発症である特発性女性化乳房症も155例が報告された。



家族歴を有する女性化乳房症はすべて思春期に症状が発現していることが明らかとなった。遺伝性女性化乳房症の診断基準としては、若年発症（18歳または20歳）であることが妥当と考えられた。

また大部分の家族歴を有する女性化乳房症患者は小児科を受診している。個別の病因が判明すれば、早期の薬物療法の導入（アロマトラーゼ阻害剤）により女性化乳房の予防が可能になる可能性もある。小児科領域での疾患概念の啓蒙が効果的であると考えられた。

遺伝性女性化乳房症患者が、関東より西に分布している理由は明らかではなかった。今後遺伝子解析結果などと併せて考察する必要があると思われた。

E. 結論

わが国における遺伝性女性化乳房症の実態調査を初めて行い、18家系20症例の存在を把握することが出来た。今後、細胞遺伝学的検査を行い、診断を確定する必要がある。

F. 研究発表 (分担者分)

1. 論文発表

1. Yamasaki A, Hanaki K, Tomita K, Watanabe M, Hasagawa Y, Okazaki R, Yamamura M, Fukutani K, Sugimoto Y, Kato K, Kodani M, Ikeda T, Konishi T, Kawasaki Y, Tokuyasu H, Yajima H, Sejima H, Isobe T, Shimizu E. Cough and asthma diagnosis: physicians' diagnosis and treatment of patients complaining of acute, subacute and chronic cough in rural areas of Japan. *Int J Gen Med*. 2010 Apr 8 ; 3 : 101-7.

2. Okada T, Ohzeki T, Nakagawa Y, Sugihara S, Arisaka O, Fujieda K, Asayama K, Tamai H, Hanaki K, Hara M, Kikuchi T, Kajiwara. J Impact of leptin and leptin-receptor gene polymorphisms on serum lipids in Japanese obese children. *Acta Paediatr*. 2010 Aug ; 99(8) : 1213-7.

3. Motomura K, Ishitobi M, Komoike Y, Koyama H, Nagase H, Inaji H, and Noguchi S. Expression of Estrogen Receptor Beta and Phosphorylation of Estrogen Receptor Alpha Serine 167 Correlate with Progression-Free Survival in Patients with Metastatic Breast Cancer Treated with Aromatase Inhibitors. *Oncology*, 79: 55-61, 2010.

4. Nukatsuka M, Saito H, Nakagawa F, Abe M, Uchida J, Shibata J, Matsuo K.I, Noguchi S, and Kiniwa M. Oral fluoropyrimidine may augment the efficacy of aromatase inhibitor via the down-regulation of estrogen receptor in estrogen-responsive breast cancer xenografts. *Breast Cancer Res Treat*, 2010 Aug 31. [Epub ahead of print].

5. Masuda, N., Iwata, H., Rai, Y., Anan, K., Takeuchi, T., Kohno, N., Takei, H., Yanagita, Y., Noguchi, S.

Monthly versus 3-monthly goserelin acetate treatment in pre-menopausal patients with estrogen receptor-positive early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 126(2) : 443-451, 2010

6. Naoi Y, Kishi K, Tanei T, Tsunashima R, Tominaga N, Baba Y, Kim S.J, Taguchi T, Tamaki Y, and Noguchi S. High genomic grade index associated with poor prognosis for lymph node-negative and estrogen receptor-positive breast cancers and with good response to chemotherapy. *Cancer*, 2011 Feb 1 ; 117(3) : 422-9

7. Naoi Y, Kishi K, Tanei T, Tsunashima R, Tominaga N, Baba Y, Kim S.J, Taguchi, T., Tamaki, Y., and Noguchi, S. Development of 95-gene classifier as a powerful predictor of recurrences in node-negative and ER-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*, in press.

8. Ohno S, Rai Y, Iwata H, Yamamoto N, Yoshida M, Iwase H, Masuda N, Nakamura S, Taniguchi H, Kamigaki S, and Noguchi S. Three dose regimens of fulvestrant in postmenopausal Japanese women with advanced breast cancer: results from a double-blind, phase II comparative study (FINDER1). *Ann Oncol*, 2010 Dec ; 21(12) : 2342-7

9. 花木啓一, 西村直子, 遠藤有里, 南前恵子, 田中敏章, 堀川玲子, 有阪治, 神崎晋, 低身長児の心理的側面 新しい対面式身長イメージ評価尺度の開発 成長科学協会研究年報 33:35-45,2010.

10. 遠藤有里, 櫻井由美, 木村真司, 石原千絵子, 鈴木康江, 南前恵子, 長石純一, 神崎晋, 花木啓一. 胎児期・新生児期の体重増加量と周産期指標の関連. *小児保健研究* 69(3) : 373-379,2010.

11. 鈴木康江, 前田隆子, 遠藤有里, 藤田小矢香, 池田智子, 南前恵子, 西村正子, 木村真司, 花木啓一. 出生時体重が母親の育児に及ぼす影響 0~12歳児を持つ保護者への調査. *米子医学雑誌* 61(3):93-99,2010

2. 学会発表

1. 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 卷 3 号 Page742(2010.12)

2. 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. 日本内分泌学会雑誌 (0029-0661) 86 卷 2 号 Page444(2010.09)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

遺伝性女性化乳房の分子遺伝学的診断法の開発と評価

研究分担者 深見真紀（独）国立成育医療研究センター分子内分泌研究部 室長

研究要旨

これまで、遺伝性女性化乳房（HG）の分子遺伝学的診断法は確立されていなかった。われわれは、Comparative genomic hybridization (CGH) を用いた *CYP19A1* 遺伝子近傍のコピー数異常解析システムを構築し、本法が HG の確定診断にきわめて有効であることを明らかとした。さらに、この方法を用いて 6 家系 18 例の新規患者を同定し、HG の発症に由来知られている染色体逆位のほか、*CYP19A1* プロモーターの重複と *CYP19A1* 上流の微小欠失が関与することを世界ではじめて見出した。

A. 研究目的

遺伝性女性化乳房（HG、別名:アロマターゼ過剰症 AEXS）は、アロマターゼ遺伝子（*CYP19A1*）過剰発現に起因するまれな常染色体性優性遺伝病である。これまで 4 家系において 15 番染色体逆位によるキメラ遺伝子形成が同定されている。従来、本症を分子遺伝学的に診断することは困難であった。これは、キメラ遺伝子の同定には mRNA を用いた高度な遺伝子解析技術が必要であるため多数の検体を対象とする解析が不可能であること、さらに、逆位を伴わない患者における発症機序が解明されていないことに基づく。

今回、われわれは、臨床的に応用可能な HG の遺伝子診断法の確立を目的として研究を行った。

B. 研究方法

1. 患者検体の集積

国内外の内分泌専門医との共同研究として、HG が疑われる患者検体の集積を行った。下記のクライテリアを満たす症例を対象とした；①前思春期または思春期から明瞭となる両側性乳房腫大、②1年以上の症状の持続、③乳房腫大を招く他の疾患および薬物投与の除外、④常染色体優性遺伝として矛盾し

ない遺伝形式、⑤血中女性ホルモン高値またはエストラジオールテストステロン比高値。

患者の末梢血からリンパ芽球様細胞株を樹立して解析に用いた。さらに、可能な場合は皮膚線維芽細胞を採取した。

2. *CYP19A1* mRNA 定量とアロマターゼ酵素活性測定

リンパ芽球様細胞株および皮膚線維芽細胞から mRNA を抽出し、Taqman realtime PCR 法を用いて *CYP19A1* mRNA の相対定量を行った。コントロールとして β 2-microglobulin を使用した。さらに、トリチウム法で蛋白 1 mg あたりのアロマターゼ酵素活性測定を行った。

3. *CYP19A1* 変異解析

リンパ芽球様細胞株および皮膚線維芽細胞からゲノム DNA を抽出し、*CYP19A1* の翻訳領域であるエクソン 2-10 およびその近傍のイントロンの直接塩基配列決定を行った。

4. ゲノムコピー数解析

アレイ Comparative genomic hybridization (CGH) 法をもちいて *CYP19A1* 遺伝子周辺のコピー数異常の有無を検討した。本研究では、15q11.2-q26.3 領域

に対応する9万のプロープおよびそれ以外の染色体領域に対応する約1万のリファレンスプロープを搭載したカスタムオリゴCGHアレイ (2x105K format, Agilent technologies) を作成し、解析に用いた。欠失/重複が疑われた場合は、当該領域に対応する FISH probe を long-PCR で作成し、FISH 解析を行った。

5. ゲノム構造異常の解析

上記の解析でゲノムコピー数解析が同定された検体を対象として、ゲノム構造異常の詳細な構造を解析した。重複または欠失の切断点近傍に位置するプライマーを用いて long PCR を行い、PCR 産物の直接塩基配列決定により切断点の配列を決定した。さらに重複/欠失に含まれる塩基配列を公共 NCBI Database 上のリファレンス配列 (NT_010194) と比較し、重複/欠失のゲノム上の位置とサイズを明確にした。

6. mRNA 解析

ゲノム構造異常を有する患者の mRNA を用いて 5'-RACE を行い、*CYP19A1* 遺伝子に結合しているプロモーターの同定を行った。得られた塩基配列は BLAST Search (NCBI) で解析した。さらに、当該配列内のプロモーター機能の有無を UCSC Genome Browser で検討した。

C. 研究結果

1. 患者検体の集積

6家系 18例の検体が集積された (図1)。A-E は日本、F はドイツの家系であった。発端者の血液検査では、エストラジオール/テストステロン比の上昇とエストロン高値、ゴナドトロピン低値が確認された。

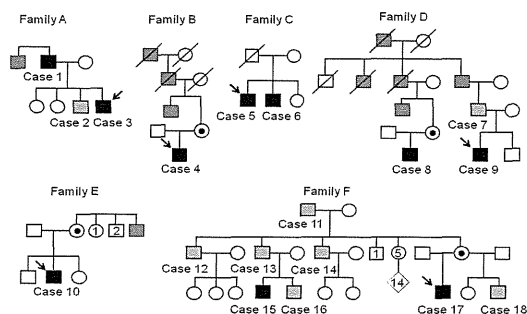


図1. HG 6家系

黒四角は検体が得られた患者、灰色四角は乳房腫大陽性者を示す。

2. *CYP19A1* mRNA 定量とアロマトラーゼ酵素活性測定

患者3例からリンパ芽球様細胞株が、4例から皮膚線維芽細胞が得られた。*CYP19A1* mRNA 量とアロマトラーゼ酵素活性は、リンパ芽球様細胞株ではほぼ正常対象と同等であったが、皮膚線維芽細胞では著明に上昇していた (図2)。

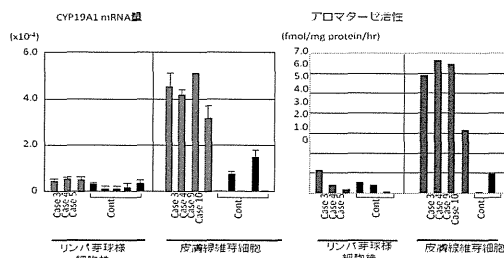


図2. *CYP19A1* mRNA 定量とアロマトラーゼ活性

3. *CYP19A1* 変異解析

発端者ゲノムにおいて、*CYP19A1* 翻訳領域には、変異が同定されなかった。

4. ゲノムコピー数解析

CGH で *CYP19A1* 上流のコピー数増加 (家系 A と B) および *CYP19A1* 上流の微小欠失 (家系 C-F) が同定され、FISH によって確認された (図3)。

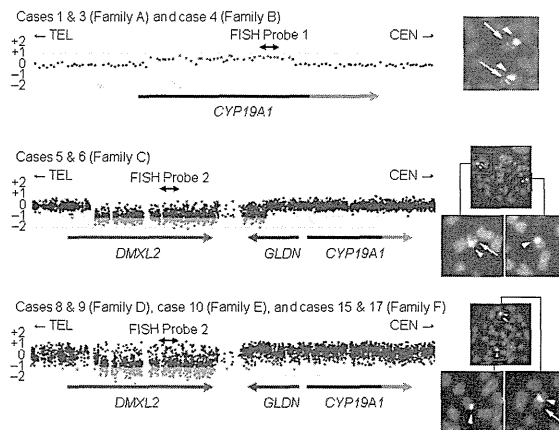


図3. AEXS患者において同定された微小重複/欠失

5. ゲノム構造異常の解析

家系 A と B においては、*CYP19A1* の 11 のエクソン 1 のうち 7 つを包含する 79,156 bp の領域がタン