

デムに重複していることが見出された。家系Cでは、*DMXL2*のエクソン2-43と*GLDN*のエクソン5-10を包含する211,631 bpの欠失、家系D-Fでは、*DMXL2*のエクソン2-43を包含する165,901 bpの欠失が同定された。

#### 6. mRNA解析

RT-PCRでは、重複陽性患者における過剰な*CYP19A1*プロモーターからの転写、および、欠失陽性患者における近接遺伝子*DMXL2*プロモーターと*CYP19A1*翻訳領域のfusionが見出された。

(倫理面での配慮)

本研究は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守して施行した。本課題は、国立成育医療研究センターおよび千葉大学倫理委員会において承認されている。臨床検体は、患者本人または両親から書面でのインフォームドコンセントを得たのちに採取した。検体は、各医療機関で個人識別情報をなくして匿名化された後に当研究機関に送付された。

#### D. 考察

HG患者において、*CYP19A1*遺伝子上流の重複と欠失が同定された。重複陽性患者では転写開始点の数の増加が、欠失陽性患者では広範囲発現性プロモーターの獲得と転写開始点の数の増加が、*CYP19A1*過剰発現を招くと推測される。本研究の成績は、遺伝子上流の微小欠失とプロモーターの微小重複が遺伝子過剰発現に起因する先天性疾患を招くことを世界ではじめて明確とするものである。

本研究で作成したカスタムオリゴCGHアレイは、重複および欠失陽性患者のみならず、ゲノムコピー数異常を伴う染色体逆位陽性HG患者の診断にも有効である。この方法は、検体採取が容易なゲノムDNAを用いて効率的に*CYP19A1*周辺の遺伝子異常の同定を行うものであり、HGの分子遺伝学的診断法としてきわめて有効であると推測される。

#### E. 結論

カスタムオリゴCGHアレイを用いたHGの分子遺伝学的診断法を開発し、これを用いてHGの新たな疾患成立機序を解明した。

#### F. 研究発表

##### 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. Fukami M, Maruyama T, Yoshimura Y, Ogata T. Hypothalamic dysfunction in a female with isolated hypogonadotropic hypogonadism and compound heterozygous *TACR3* mutations and clinical manifestation in her heterozygous mother. *Horm Res Paediatr.* 73(6): 477-481, 2010

3. Dateki S, Kosaka K, Hasegawa K, Tanaka H, Azuma N, Yokoya S, Muroya K, Adachi M, Tajima T, Motomura K, Kinoshita E, Moriuchi H, Sato N, Fukami M, Ogata T. Heterozygous *OTX2* mutations are associated with variable pituitary phenotype. *J Clin Endocrinol Metab.* 95(2): 756-764, 2010

4. Muroya K, Mochizuki T, Fukami M, Iso M, Fujita K, Ogata T. Diabetes mellitus in a Japanese girl with HDR syndrome and *GATA3* mutation. *Endocr J.* 57(2): 171-174, 2010

5. Fukami M, Nagai T, Mochizuki H, Muroya K, Yamada G, Takitani K, Ogata T. Anorectal and urinary anomalies and aberrant retinoic acid metabolism in cytochrome P450 oxidoreductase deficiency. *Mol Genet Metab.* 100(3): 269-273, 2010

6. Ashkenazi-Hoffnung L, Leberthal Y, Wyatt AW, Ragge NK, Dateki S, Fukami M, Ogata T, Phillip M, Gat-Yablonski G. A novel loss-of-function mutation in *OTX2* in a patient with anophthalmia and isolated growth hormone deficiency. *Hum Genet.* 127(6): 721-729, 2010

7. Kagami M, O'Sullivan MJ, Green AJ, Watabe Y, Arisaka O, Masawa N, Matsuoka K, Fukami M, Matsubara K, Kato F, Ferguson-Smith AC, Ogata T. The IG-DMR and the MEG3-DMR at human chromosome 14q32.2: hierarchical interaction and distinct functional properties as

imprinting control centers. PLoS Genet. 6(6): e1000992, 2010

8. Dateki S, Fukami M, Uematsu A, Kaji M, Iso M, Ono M, Mizota M, Yokoya S, Motomura K, Kinoshita E, Moriuchi H, Ogata T. Mutation and gene copy number analyses of six pituitary transcription factor genes in 71 patients with combined pituitary hormone deficiency: identification of a single patient with LHX4 deletion. J Clin Endocrinol Metab. 95(8): 4043–4047, 2010

## 2. 学会発表

1. 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. 第 44 回小児内分泌学会. 2010 年 10 月 7-9 日大阪

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 家系における新規染色体微細構造異常の同定: 新たな遺伝疾患成立機序の解明. 第 55 回日本人類遺伝学会. 2010 年 10 月 27-30 日 大宮

3. 深見真紀、花木啓一、大山建司、佐野友昭、西垣敏紀、神崎晋、稲垣朱実、堀川玲子、生水真紀夫、緒方勤. アロマターゼ過剰症 5 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. 第 15 回生殖内分泌学会. 2010 年 11 月 20-21 日 大阪

4. Fukami M, Kato F, Hanaki K, Binder G, Ohyama K, Sano F, Inagaki A, Takagi H, Nishigaki T, Soneda S, Shozu M, Ogata T. Aromatase excess syndrome caused by promoter duplication and upstream microdeletion of CYP19A1 gene. 第 33 回分子生物学会年会 2010 年 12 月 7-10 日 神戸

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. 第 20 回臨床内分泌代謝 UPDATE 2011 年 1 月 28-29 日 札幌

6. 深見真紀. 小児内分泌疾患の分子診断 第 142 回染色体研究会 2010 年 6 月 5 日 東京

7. 深見真紀. 成長障害・性分化疾患を招く新たな

遺伝子異常: 発症責任遺伝子の発見と疾患成立機序の解明 第 34 回大阪小児先進医療研究会セミナー. 第 4 回女性医療従事者支援研究事業講演会 (共催) 2011 年 1 月 21 日 大阪

G. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

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

本研究は、わが国における遺伝性女性化乳房症の早期診断および早期治療を可能にすることにより、本症患者の QOL を向上させることを目的としている。これまでに、わが国における本疾患の患者の実態把握のための調査研究と、細胞遺伝学的診断法の開発研究を開始してきている。本年度は、これらの調査および開発研究を継続するとともに、集積症例のデータを解析した。さらに、これをもとに、種々の原因で起こる女性化乳房症の中から効率よく本疾患患者を拾い上げることを目的とする臨床診断基準案を策定した。また、細胞遺伝学的診断法は本疾患研究の基礎をなすものであり、本年度も細胞遺伝学的診断方法の開発とその評価を目指した臨床研究を継続して実施した。本研究の実施に当たっては、あらかじめ千葉大学医学部倫理委員会の審査と承認を得た。

研究分担者

深見真紀	国立成育医療研究センター研究所 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、思春期前の男性に女性化乳房、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。

本症の原因は、われわれの研究によりエストロゲン合成酵素（アロマターゼ）遺伝子の変異による常染色体優性の単一遺伝子病であることが明らかとなった。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が可能な疾患と

なった。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と考えられる。しかしながら、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などから、本症の発症前診断は現状では行われていない。これには、本症の診断基準が作成されていないこと、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ィーがないことなどが原因となっている。

2010 年以降、われわれは本邦における本疾患患者を調査し、臨床像や診療の現状の把握に努めてきた。本年度は、これらの基礎的データをもとに診断基準案を作成した。また、細胞遺伝学的診断法の開発および応用研究を継続して実施した。

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 2012 年まで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・抄録をもと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 (familiar 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）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。この結果は、昨年度の本研究班の研究報告書（厚生労働科学研究費補助金 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 22 年度総括・分担研究報告書）にまとめられている。その後、この一次調査をもとに、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た。その成績の一部（2011 年度集計分）については、前述の研究報告書に集計している。

## 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。2010 年から 2012 年にかけての研究で、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。このシステムでは、（1）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 oligo-probe array および 5'-rapid amplification of cDNA ends による染色体変異のスクリーニングと、（2）検出された遺伝子変異についての同定より構成される。（2）では、long

range PCR 法、シークエンス、fluorescence in situ hybridization などの方法を個別にデザインして組み合わせることで遺伝子変異を特定するものである。

## 4. 遺伝子型—表現型相関解析

新たに開発した細胞遺伝学的手法により、責任遺伝子変異を検出できた症例と、海外からの症例合計 16 症例を表現型の解析に用いた。

（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。個人情報は、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。

## C. 研究結果

### 文献調査

2010 年度より開始した調査を継続し、2010 年以降に追加報告された症例がないか文献調査を実施した。さらに、欧文文献についても調査を実施し、国外での報告例の実態の把握も行った。その結果、2011 年度に新たに邦文で報告された症例はないことが判明した。日本人症例の報告は、われわれが欧文で報告した 8 症例、4 家系に限られていた。

次いで、国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 家系は本研究班員からの報告であった。

### 全国実態調査

2010 年から 2011 年にかけて、全国医療機関の中から小児内分泌・内分泌内科、内分泌外科、形成外科、乳腺外科、産婦人科、外科を標榜している病院の診療科および医師を対象にアンケート調査（一次）を実施した。本年度はこの調査結果をもとに、二次調査（アンケート調査、および詳細調査）を継続して実施し、正確な患者数の把握に努めた。

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。

### 診断基準案の策定

本研究班でリストアップした症例の臨床像を分析検討し、4 項目からなる診断基準 (案) を作成した (表 1~3)。さらに、4 項目について注記による説明を加えることで、判断の便宜を図ることとした。

この過程で問題となり検討を重ねた項目は、主として次の 2 点である。

第一は、遺伝歴の有無を診断基準に加えるか否かであった。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。

第二の点は、内分泌検査の取り扱いである。本症は、アンドロゲンからエストロゲンへの転換率が上昇し、上昇したエストロゲンにより乳房の増大を来す疾患である。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

表 1 遺伝性女性化乳房症の診断の手引き (案)

#### 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。

#### 診断の手引き

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<sup>1)</sup>
- 2) 発症年齢が 20 歳以下<sup>2)</sup>
- 3) 2 次性女性化乳房<sup>3)</sup> と思春期一過性女性化乳房症<sup>4)</sup> を除外できる
- 4) 家系内発症がある<sup>5)</sup>

#### B. 参考とする内分泌検査

##### ● 血中エストラジオール (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 [pg/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 低値、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、同年齢の健康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<sup>6)</sup>。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

- 注 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。
- 注 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。
- 注 3) 二次性女性化乳房 (付表) の可能性を除外する。二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・低身長症状以外の症状を示さない。
- 注 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、症状 (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。
- 注 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。
- 注 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) オリゴプロブアレイ (重複、欠失)、fluorescence in situ hybridization, FISH 等により変異を検出し、シーケンシング等により確定する。

表2 別表 女性化乳房の原因

症候性 (2次性)	A. 染色体異常	A1. Klinefelter 症候群 A2. XX 男性, Swyer 症候群 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. 球脊筋性筋萎縮症 (Kennedy-Alter-Sung 症候群) D2. POEMS 症候群 (Crow-Fukase 症候群) D3. 筋強直性ジストロフィー D4. ミトコンドリア脳筋症 D5. 筋ジストロフィー D6. その他	
	E. 悪性腫瘍	E1. hCG 産生腫瘍 (脚癌、胃癌、精巣腫瘍、胚嚢移植上皮癌など) E2. 絨毛癌 (胃癌、膵臓腫瘍、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、膵臓腫瘍、副腎腫瘍) 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. 低コルチゾール血症性性腺機能低下症 F3. 高コルチゾール血症 F4. GH 分泌不全症 F5. ACTH 単独欠損症 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. アルドステロン拮抗薬 I2. 降圧剤 I3. 抗精神薬 I4. 利尿剤 I5. ホルモン剤 I6. 抗 HIV 薬 I7. 高脂血症薬 I8. 漢方薬 (牛車腎気丸) I9. 牛乳 I10. その他 (male to female などを含む)	
	特発性 (原発性)	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 (推定も含む) 【家系内に女性化乳房患者がいる場合など】 J3. 家族歴・遺伝性が不明 J4. その他

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結論である。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。

細胞遺伝学的診断法の開発とその評価

遺伝性女性化乳房症カテゴリ1a および 1b と推定された患者で、検体の入手可能であった症例について、CGH array および long range PCR 法、FISH 法を用いて、細胞遺伝学的診断を継続して実施した。その結果、複数の家系について、遺伝子重複・遺伝子欠失など新たな遺伝子変異を確認した。本年度は、新たに CYP19A1 のタンパクコード領域に重複を有する家系が見いだされた。この症例の切断端の状況などは現在解析中である。

結局、遺伝子異常としては、これまでアロマターゼ遺伝子近傍の遺伝子プロモーター領域の微細逆

表3 特発性女性化乳房症のアンケート調査

カテゴリ	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	—	23	26
	b	AEXSの可能性がある(含孤発例)	<25	なし or 不明	—	132	154
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			4	41
合計						244	314

位・微細欠失・微細重複など様々な変異が存在することが明らかとなった。これらの結果は、本疾患の分子遺伝学的理解に新たな展開をもたらす成果であった。また、新たに開発した CGH array と long range PCR および 5'RACE の組み合わせによる系統的検索法が機能することが確認された。

また、1b 症例で細胞遺伝学的検討を実施した症例の中に、変異の発見されない症例や、リポマスチアと考えられる女性化乳房症の症例が含まれていることが明らかとなった。

同定された遺伝子変異

これまでに、われわれは本症の原因として CYP19A1 とその近傍の遺伝子を含む比較的狭い染色体領域 (~10Mb) における、ゲノム構造異常を同定してきた。2003 年に、染色体逆位を報告し、その後本研究班では染色体重複、染色体欠失を新たに発見した。

切断端の同定と塩基配列の解析により、CYP19A1 の変異には、CYP19A1 とその周囲の遺伝子組み換えが関与していることが強く示唆された。いずれも減数分裂時の DNA 複製に関連して生じたと推定される。これらのゲノム構造異常には、相同組み替え (non-allelic homologous recombination, NAHR)、非相同組み替え (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み替えが生じており段端に小さな欠失を持つことがある。FosTes では 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。

#### 遺伝子変異型・表現型相関

本研究で収集されたデータおよび文献例を合わせ 16 例のデータについて遺伝子変異型と表現型の相関について解析した。

その結果、微細逆位により CYP19A1 近傍にあった house keeping 遺伝子のプロモーターが CYP19A1 の上流にリクルートされた症例では、全身の臓器・細胞でアロマターゼが発現しており、血中エストロゲン値も高く、より若年で症状が出現していた。女性化乳房の程度も高度で、手術後に再発する症例も認められた。

CYP19A1 プロモーターの上流に存在する遺伝子の 3'側の欠失により、残存したプロモーターがあらたに CYP19A1 として機能するようになった遺伝子変異でも、比較的強い女性化乳房が認められたが、微細逆位型よりは症状やエストロゲン値の上昇は軽かった。これには、CYP19A1 のコード領域までの距離が微細逆位より長いことや、欠失した遺伝子の発現制御パターンなどが関与していると考えられた。

CYP19A1 のプロモーター領域の重複による家系では、最も軽微な症状とエストロゲン値の上昇が観察された。これは、重複したプロモーターが、発現臓器や発現時期などの点で生理的なアロマターゼと同様な制御を受けており、その発現量がおよそ 2 倍程度の増加にとどまるためと推定された。

以上より、本症では遺伝子変異型と表現型には明瞭な相関が認められた。このことは、治療を考える上でも変異ごとの個別化が必要であることを示唆している。

#### D. 考察

一連のわれわれの研究成果から、わが国には本症患者が 10~50 名程度存在している可能性があること、まだ適切な診断を受けていない患者家系が存在している可能性がある実態が明らかになってきた。適切な診断を受けないまま手術治療を受けていることも明らかとなった。本疾患は、的確な診断とこ

れに基づく治療により、発症や再発を予防できると考えられていることから、適切な診断方法の提示が望まれていた。

今回策定した診断手引き案は、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と思われる。われわれのリストアップした症例はほぼすべてが 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、スクリーニングには威力を発揮する基準となっていると思われる。一方、思春期一過性女性化乳房症が入る余地が残る点で、本疾患のみで診断することはできず、細胞遺伝学的検査による最終診断を推奨することには合理性があると思われる。また、4 つの診断項目について解説を加え、できる限り判断に迷いが生じないように工夫をしたが、思春期一過性女性化乳房症との鑑別について 1 年間の観察とした点では、文献上も十分な根拠を見いだすことはできず今後の再検討の余地を残すものとなった。

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旨とする。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。

今回の研究で同定された新たなゲノム変異は、本症の発生メカニズムの研究を大いに展開させる成果である。

本研究班では、本疾患の実態の把握と診断の支援を目的として研究活動を実施してきた。実態の把握、診断法の開発、診断基準の策定など所期の目的におおむね沿った成果が得られている。今後は、診断された患者の治療支援についても検討していく必要があると考えられる。本疾患が稀であることから、本症の治療経験を多く持つ医師はおらず、臨床医のサポート体制の構築が必要と考えられる。遺伝子変異型を把握した上で、適切な治療計画の相談に乗ること、さらにはその治療経験を集積していく体制を整えることが望まれる。

## E. 結論

わが国における遺伝性女性化乳房症患者の実態を把握することができた。わが国には本症患者が、10～50名程度存在していると推定された。本症の細胞遺伝学的診断法を開発した。遺伝子変異は、CYP19A1近傍の遺伝子組み換えによるものであった。これらの確定患者の情報に基づいて、本症患者を効率的にスクリーニングするための診断法の手引き案を作成した。これにより臨床診断された患者のための、細胞遺伝学的診断リソースを提供するための体制を整えている。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 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; 96:E1035-1043.
2. Usui H, Kaku H, Kihara M, Shozu M. Molecular distinction of consecutive molar pregnancies. *Obstet Gynecol* 2011; 117:492-495.
3. 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; 2:29-42.
4. Nakamura M, Mitsunashi 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; 37:366-369.
5. Nakada E, Nakada TA, Walley KR, McConechy M, McLaughlin L, von Dadelszen P, Shozu M, Boyd JH. mRNA induces RANTES production in trophoblast cells via TLR3 only when delivered intracellularly using lipid membrane

encapsulation. *Placenta* 2011; 32:500-505.

6. Kato K, Tate S, Uehara T, Usui H, Mitsunashi A, Shozu M. The application of a newly developed linear stapler preloaded with tissue reinforcement for distal pancreatectomy in the management of ovarian cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2011; 32:579-581.
  7. Ishikawa H, Kiyokawa T, Takatani T, Wen WG, Shozu M. Giant multilocular sex cord tumor with annular tubules associated with precocious puberty. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 206(1):e14-16.
  8. 生水真紀夫、碓井宏和. 特集・不妊診療のすべて 卵巣とアロマターゼ. *産婦人科治療* 2011. 102 増刊 ; 52-60 (466-474)
- ### 2. 学会発表・講演
1. 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 例の分子遺伝学および臨床的解析. 第 84 回日本内分泌学会学術総会. 2011.4.21-22 (神戸)
  2. 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. 2011.7.22-23 (東京)
  3. 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. 2011.8.31-9.2 (佐賀)
  4. 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. 2011.9.10 (東京)
  5. 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. 2011.10.1 (北海道)
  6. 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. 2011.11.5 (神戸)
  7. 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. 2011.11.11 (千葉)



## 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

遺伝性女性化乳房の診断基準案の作成

研究代表者	生水真紀夫	千葉大学大学院医学研究院生殖機能病態学 教授
研究分担者	深見真紀	(独)国立成育医療研究センター研究所分子内分泌研究部 部長
	原田信広	藤田保健衛生大学医学部生化学 教授
	横田千津子	城西大学薬学部薬学科臨床病態学講座 教授
	花木啓一	鳥取大学医学部保健学科母性・小児家族看護学講座 教授
	野口眞三郎	大阪大学大学院医学系研究科乳腺・内分泌外科学 教授
	碓井宏和	千葉大学大学院医学研究院生殖機能病態学 講師

研究要旨

遺伝性女性化乳房の臨床的診断を行うための診断基準案の作成を試みた。2010年度より本研究班で調査・診断集積した症例と文献から収集された症例の解析をもとに、4つの臨床的項目よりなる基準を作成した。この基準で本症と臨床診断された患者については、細胞遺伝学的検査により診断を確定し、すみやかに治療を考慮することを推奨することとした。種々の検討の結果、内分泌学的検査は、診断項目に含めないこととしたが、診断を推定する手がかりとされることが多いと考えられたため、その検査値の解釈について診断の誤謬とならないよう解説を加えた。

A. 研究目的

遺伝性女性化乳房症は、思春期前の男性に女性化乳房、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ことがある。

本症は、われわれのグループによりエストロゲン合成酵素（アロマターゼ）遺伝子の変異による常染色体優性の単一遺伝子病であることが明らかにされた疾患である。アロマターゼ遺伝子変異の結果、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。その結果、血中エストロゲン値が上昇し、男性にも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。

その病態が明らかとなったことから、本症はアロマターゼ阻害剤により発症予防や治療が可能な疾患と考えられるようになった。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と考えられる。しかしながら、本症が稀な疾患であること、新しい疾患概念で医療者にも十分に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などから、本症の発症前診断は現状では行われていない。これには、本症の診断基準が作成されていないこと、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ィーがないことも原因となっている。

2010年以降、われわれは本邦における本疾患患者を調査し、臨床像や診療の現状の把握に努めてきた。本年度は、これらの基礎的データの収集分析を継続し、これをもとに診断基準案を作成するための研究を実施した。

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2012年まで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。

さらに、英文文献での報告症例の調査も継続して実施した。PubMed を用い、(gynecomastia) AND (familiar or hereditary) をキーワードとして検索し、ヒットした文献について個別に調査し、本症に該当する症例であるか否かを検討した。これらの検索は、2010 年より継続して実施したものである。

## 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、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、1,178 通）、内科領域（日本内分泌学会 認定教育施設、314 通）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。この結果は、昨年度の本研究班の研究報告書（厚生労働科学研究費補助金 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 22 年度総括・分担研究報告書）にまとめられている。その後、この一次調査をもとに、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た。その成績の一部（2011 年度集計分）については、前述の研究報告書に集計している。

## 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。したがって、本症の最終診断は遺伝学的検査によって行われるべきものと考えられ、その方法の確立が重要な課題となっていた。

2010 年から 2012 年にかけての研究で、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、深見が中心となって開発した。このシステムでは、(1) 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 oligo-probe array（遺伝子増幅・遺伝子欠失の検出）および 5'-rapid amplification of cDNA ends（染色体逆位や新規プロモーターの検出）による染色体変異のスクリーニングと、(2) 検出された遺伝子変異についての同定より構成される。(2) は、long range PCR 法、シーケンス、fluorescence in situ hybridization などの方法を、推定される変異の種類と位置に応じて個別にデザインして組み合わせて行うもので、遺伝子の変異を特定するものである。これまでに発見同定された構造異常には様々なものがあり、この第二段階の検索ではある程度の個別化はやむを得ないと考えられた。

## 4. 遺伝子型—表現型相関解析

新たに開発した細胞遺伝学的手法により、責任遺伝子変異を検出できた症例を本邦における確定例として解析に用いた。また、海外からの症例（その一部は文献として報告されたもので、細胞遺伝学的解析の行われていない症例については検体の提供を受けて新たに解析を実施した症例も表現型の解析に用いた。

(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。個人情報は、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. 診断手引き案の概略

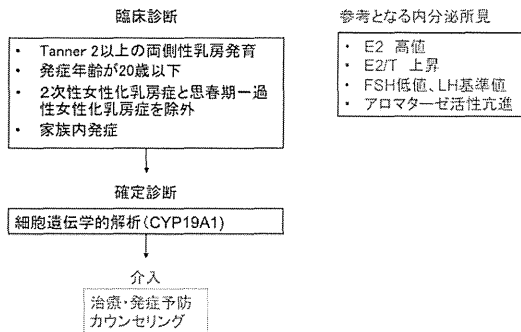


図1 遺伝性女性化乳房症診断フロー

本研究班でリストアップした確定症例の臨床像を分析検討したうえで、表 1 に示すような臨床的診断手引き（案）を作成した。

この臨床的診断基準は、4つの臨床的項目よりなり特殊な検査を行うことなく臨床診断することが可能である。4項目すべてを満たすものを臨床的遺伝性女性化乳房症と診断し、1から3までの3項目のみを満たすものを疑い例と診断し、細胞遺伝学的検査を実施して診断を確定することを推奨している。

さらに、診断項目 4 項目については注記に説明を加えることで、判断の便宜を図ることとした。また、細胞遺伝学的検査についても解説を加え、研究班での診断支援についても触れている。

本案は、あくまで臨床的診断であり厳密には細胞遺伝学的検索により診断が確定される。そこで、本案では診断基準とはせず、手引きとした。これにより、臨床診断により症例を拾い上げるという目的での使用が可能な案となっている。

本案策定過程で、とりわけ問題となったのは、遺伝歴と臨床検査の取り扱いである。いずれも診断項目には加えないこととするのが適切と判断するに至った。本案のコンセプトをまとめて図 1 に示した。以下にその検討内容を詳述する。

## 2. 検討された課題

### 2-1 遺伝歴の取り扱い

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、以下に示すように 3 つの理由から、本項目を満たさない場合でも疑い例として取り扱い、細胞遺伝学検査により診断を確定することを推奨するとした。

表 1 遺伝性女性化乳房症の診断の手引き（案）

#### 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生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。

#### 診断の手引き

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<sup>[1]</sup>
- 2) 発症年齢が 20 歳以下<sup>[2]</sup>
- 3) 2 次性女性化乳房<sup>[3]</sup> と思春期一過性女性化乳房症<sup>[4]</sup> を除外できる
- 4) 家系内発症がある<sup>[5]</sup>

#### 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、 $E2[pg/ml]/T[ng/ml](T) > 10$  を示す例が多いが、その他の疾患（クライフェルター症候群、肝疾患など）でも  $E2/T > 10$  となることもある。

##### ● 血中ゴナドトロピン :

FSH 低値、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<sup>[6]</sup>。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。末梢血単球で代替できることもある。

#### 注記

- 注 1) 乳房腫大は進行性である。腫大の程度は遺伝子型と相關しており、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。
- 注 2) 思春期、遅くとも 20 歳までに発症(乳房腫大が自覚または他覚)する。前思春期から、乳房腫大が始まる例がある。
- 注 3) 二次性女性化乳房(付表)の可能性を除外する。二次性女性化乳房では、それ以外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・低身長症状以外の症状を示さない。
- 注 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、症状(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。
- 注 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。細胞遺伝学的検索、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。
- 注 6) 5'-rapid amplification of cDNA ends, 5'RACE (プロモーター近位)、15 番染色体 comparative genomic hybridization (CGH)オリゴプローブアレイ(重複、欠失)、fluorescence in situ hybridization, FISH 等により変異を検出し、シーケンシング等により確定する。

理由の第一は、本症の患者が de novo で発生するものと考えられることによる。遺伝性であることを条件とした場合には de novo 症例が拾い上げられないこととなる。早期診断・治療の機会を逃さないようにすべきであり、de novo 発生症例も拾い上げる基準が適切と判断した。

第二の理由は、軽症例では遺伝性が証明しにくいことによる。女性では巨大乳房症を他覚・自覚することは比較的困難で、とりわけ軽症例では難しいことが本研究班で集積したわが国の家系例からも明らかになっている。したがって、母方からの遺伝による場合には遺伝性と認識されない可能性があり、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。

第三の理由は、兄弟姉妹が少なくなった昨今では遺伝性の確認が難しくなっていると考えられたことによる。先に述べたように、軽症例の遺伝の場合には男性患者が存在していない家系では、遺伝性の認識がとりわけ困難となる。

## 2-2 内分泌学的検査の取り扱い

本症は、アンドロゲンからエストロゲンへの転換率が上昇し、上昇したエストロゲンにより乳房の増大を来す疾患である。しかしながら、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、

(1) 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、(2) 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結論である。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。

## 3. 診断項目とその内容

診断項目は以下の4項目とした。

- 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

以下に各項目別の検討結果を記載する。

### 3-1 1) タナー分類2度以上の両側性乳房発育

思春期の女性の乳房発育は、タナーにより stage 1-4 に分類されており、これを転用することが利便性の点でも有利と考えられた。海外で報告された症例はほぼすべて、stage 3-4 と考えられたが、本邦での確定例では stage 2 の症例が含まれていた。これは、本邦症例の遺伝子変異が海外例と異なり、生理的アロマターゼプロモーターの重複例であったことから、エストロゲン上昇が時間的空間的に生理的に近い発現制御を受けている可能性があることと関連していると推定された。また、発見時期が比較的早期であったことも関連している可能性が考えられた。本邦における文献報告例については、写真掲載のあるものについて検討を行ったが、やはり stage 4 には達していないと判断されるものが多く、stage 3 あるいは stage 2 と 3 の間と思われる症例が含まれていた。

以上の検討から、本邦における診断基準としては stage 2 以上の乳房発育とした。この結果、両側性軽症例が多く含まれることになり、2次性の女性化乳房症や思春期一過性女性化乳房症など本症とは異なる病態が含まれる可能性が高まるという懸念が発生するが、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、および4) 家系内発症がある の2項目が担保されていれば、これらとの鑑別は可能になると考えられた。

### 3-2 2) 発症年齢が20歳以下

全国調査では、スクリーニングの意味もあって25歳までの発症例として回答を求めた。この調査により、ほぼ確定症例と判断された遺伝性のある女性化乳房症症例(すべて男性)について、発症年齢をあらためて集計したものを図2に示す。その結果、確定症例と判断された症例はすべて、18歳より前の発症であることが確認された。海外報告例なども含めると、発症年齢とタナーstageには弱い逆相関が認められ、女性化乳房の強い海外例の多くが思春期前期の発症であったのに対し、国内例で比較的症状の軽い症例は思春期での発症例であった。い

ずれにしても 20 歳以降の発症例はなく、診断基準としては 20 歳以下の発症とすることが妥当と判断した。

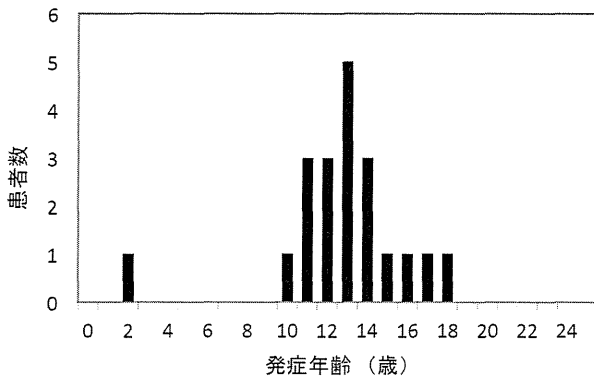


図 2 遺伝性女性化乳房症の発症年齢

### 3-3 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

2 次性に女性化乳房を呈する疾患としては、数多くの原因疾患が知られている。種々の文献報告などを総合し、原因を可能な限り系統的に分類して、除外診断のための別表 1 (表 2) を作成した。表にあげたもの以外にも、女性化乳房を示す生理的状态としては、高齢によるものも日常多く見られる。また、薬剤性のもも頻度が高い。

表 2 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. Klinefelter 症候群	
	A2. XX 男性、Seyler 症候群	
	A3. その他	
	B. 酵素欠損症	B1. 3 $\alpha$ -HSD 欠損症
		B2. 21-hydroxylase 欠損症
		B3. 17 $\alpha$ -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. 脊骨性筋萎縮症 (Kennedy-Alter-Sung 症候群)
D2. POMBS 症候群 (Cru-Fukase 症候群)		
D3. 筋強直性ジストロフィー		
D4. ミトコンドリア脳筋症		
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、肺癌腫瘍、尿管移行上皮癌など)	
	E2. 絨毛膜 (胃癌、脳腫瘍、膀胱癌、精原細胞腫)	
	E3. 胚嚢嚢性腫瘍 (精原細胞腫、脳腫瘍)	
	E4. エストロゲン産生腫瘍 (胃癌、精原細胞腫、副腎腫瘍)	
	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. 成長ホルモン様性腺細胞腫瘍	
	F3. 高プロラクチン血症	
	F4. 副甲状腺不全症	
	F5. hCG 産生欠損症	
	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. アルドステロン拮抗薬	
	I2. 降圧剤	
	I3. 抗精神薬	
	I4. 利尿剤	
	I5. ホルモン剤	
	I6. 抗 HIV 薬	
	I7. 高脂血症薬	
	I8. 漢方薬 (牛車腎気丸)	
	I9. 牛乳	
	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. 家族歴・原因不明	
	J4. その他	
	J5. その他	

遺伝性女性化乳房症との鑑別のうえで、最も問題となるのは、思春期に両側性に発生する生理的な思春期男性の乳房腫大である。遺伝性が確認できない場合、両者の区別は必ずしも容易ではないが、発症年齢と持続期間とでおおよそ区別できると考えられる。

Stage 3 と 4 の重症型女性化乳房は、思春期一過性女性化乳房ではまれで、遺伝性女性化乳房症を示唆すると考えられる。このような重症型では、発症年齢が早く前思春期には発症する傾向にあること、さらに進行性であることも鑑別に役立つ所見であり、重症例では、思春期一過性女性化乳房症との鑑別は比較的容易である。

しかしながら、軽症例 (stage 2) で遺伝性が確認できないときは、鑑別が難しく、経過観察による鑑別が最も有用であろうと思われる。しかしながら、両者を鑑別するための持続期間として適切な区切りを示す資料は見いだせなかった。本基準が候補患者の拾い上げを主な目的とすることなどを考慮して、今回の案では便宜的に、乳房腫大の持続期間が一年未満のものを思春期一過性女性化乳房とすることとした。

内分泌学的検査では、2 次性女性化乳房と思春期一過性女性化乳房症を本症から鑑別に有用と思われるものは見当たらなかった。

### 3-4 4) 家系内発症がある

先に述べたように、家系内発症は本疾患の定義に関わる項目である。これまで、遺伝子診断により遺伝子変異が特定された確定例はすべて、アロマターゼ遺伝子の機能獲得型変異例であり、常染色体優性の遺伝形式をとるものである。ほとんどが、患者の父親が保因者であった。しかしながら、母親からの遺伝の可能性もあり、今回の我々の研究からもそのような症例が確認された。このような母方からの遺伝の場合、巨大乳房が認識されにくい軽症例では、家系内発症が確認できない状況が想定される。昨今のように子供の数が少なく、家系が小さくなった状況では、家系内発症を確認することに困難が生じやすいと考えられる。海外では、詳細な問診で患者が養子であったことが判明した例も報告されている。

このように、家系内発症が確認できれば、遺伝性女性化乳房症の診断を強く指示するが、確認できない場合には必ずしも否定できないことを、注に明記することとした。

さらには、de novo 変異ではそもそも家系内発症はない。これまでのところ、そのような症例は確認できていないが、このような症例が存在しうることについても注記することとした。

#### 4. 細胞遺伝学的診断法の開発とその評価

遺伝性女性化乳房症カテゴリー1a および 1b と推定された患者で、検体の入手可能であった症例について、CGH array および long range PCR 法、FISH 法を用いて、細胞遺伝学的診断を継続して実施した。その結果、複数の家系について、遺伝子重複・遺伝子欠失など新たな遺伝子変異を確認したものの、本年度新たに見いだされた変異はなかった。

結局、遺伝子異常としては、これまでアロマターゼ遺伝子近傍の遺伝子プロモーター領域の微細逆位・微細欠失・微細重複など様々な変異が存在することが明らかとなった。これらの結果は、本疾患の分子遺伝学的理解に新たな展開をもたらす成績であった。また、新たに開発した CGH array と long range PCR および 5'RACE の組み合わせによる系統的検索法が機能することが確認された。

また、1b 症例で細胞遺伝学的検討を実施した症例の中に、変異の発見されない症例や、リポマスチアと考えられる女性化乳房症の症例が含まれていることが明らかとなった。

#### D. 考察

診断の手引きの策定に当たり、個別の検討項目についての考察は結果の項目に記載した。ここでは、以下の4点について総論的な考察を加える。

##### 診断の手引きの目的

遺伝性女性化乳房症は、早期発見治療により症状が出現・悪化するのを阻止できる疾患である。本症には特徴的な兆候があり、臨床症状から本症を強く疑うことはできる。一方、診断の確定には細胞遺伝学的検査が現状では必須であるが、細胞遺伝学的

診断には特殊な技術や費用・期間を要するため一般にスクリーニングとして用いることは適切ではない。そこで、特殊な検査を行うことなく本症の疑いを置くことができる臨床的診断基準を作成して、診断確定のための候補患者拾い上げ基準として用いることとした。同時に、細胞遺伝学的検査を実施する体制も供給する必要があるため、当該研究班により実施することとしている。

表3 特発性女性化乳房症のアンケート調査

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	—	23	26
	b AEXSの可能性がある(含孤発例)	<25	なし or 不明	—	132	154
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		4	41
合計					244	314

一方、内分泌学的検査値は特徴的ではあるものの、例外が存在し、スクリーニングとして用いた場合の特異度・感度は十分でないとの分析から、診断には用いないこととした。結果的に、診断項目から内分泌検査がなくなったため、臨床の現場では使いやすい基準となったと思われる。しかしながら、内分泌専門家にとっては、実際には内分泌検査を省いて本症の細胞遺伝学的検索に進むことはないと思われ、参考所見として記載をしている。これは、本症の病態から推定されるエストロゲン高値が必ずしも認められないこと、したがってエストロゲン高値が明瞭でなくても本症の可能性を強調することに重きを置いた記載となっている。この点を強調しておくことは、本基準が拾い上げを主な目的としていることに合致している。

##### 診断基準の妥当性

女性化乳房症の原因としては、表2に示すように様々なものがあるが、臨床的に最も頻度が高いのは薬物によるものである。この中から、如何にして効率よく遺伝性女性化乳房症をスクリーニングするか検討を行った。臨床基準と内分泌検査所見を組み合わせた案等も含めて検討した結果、これまでの集積例に当てはめた場合、最も効率的に拾い上げる

ことができた基準が臨床症状のみの 4 項目からなる基準であった。これに、内分泌検査異常を加えて判定した場合、基準値の設定によっては除外されてしまう例が出てくるといった問題が生じる。エストラジオール値を例にとっても、低濃度での測定値方法の精度の問題、年齢ごとの基準値の設定など、様々な難しい問題が生じる。これらの基準値については、今後も症例を集積して再度検討していく必要がある。

今回の基準は、2009 年から実施された全国規模の実態調査結果の症例集積結果に基づいている。すなわち、全国調査でリストされた 314 例を、遺伝性があり本症の可能性が高い症例と考えられたものをカテゴリー1a (26 例)、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本症の可能性が残る症例をカテゴリー1b (154 例)、発症年齢が 25 歳以上で本症の可能性がおおむね否定できると考えられた症例をカテゴリー2 (84 例)、2 次性女性化乳房症の原因となりうる原因を有する症例をカテゴリー3 (9 例)、さらに臨床症状が不十分で本症の可能性を完全には否定しきれない症例をカテゴリーX (41 例) に分類することができた (表 3)。この分類では、発症年齢を 25 歳から 20 歳に変更してもカテゴリーの変更は生じなかった。今回の診断基準は、この分析に基づいて設定したものであり、診断項目 1)、2) 3) の 3 項目を満たす症例がカテゴリー1b に、1)、2)、3)、4) の 4 項目を満たす症例がカテゴリー1a に該当する。

#### 臨床診断後の対応

本基準で拾い上げられた症例については、細胞遺伝学的診断が推奨される。この診断は、一般の検査施設では困難であり本研究班の深見らの研究施設で実施する予定である。現状では検査に支障はないが、長期的な継続という観点からは、費用面など検討すべき課題もある。

診断が確定した場合のその後の管理対応についても検討が必要である。現状では、本症の専門家はおらず本研究班の班員が臨床医の個別相談に応じる必要があるものと思われる。この作業を通じてさ

らに症例を集積し、今後の診断基準の改定や治療にいかすためのデータを集積することが望まれる。治療薬としてアロマターゼ阻害剤は有効であるが、アロマターゼ阻害剤の投与量や種類など、検討すべき課題が残されている。これまでは、乳がんでの治療量をおよその目安として開始し、臨床症状をみて判断してきたがさらに詳細に検討する必要がある。また、長期投与が前提となるが、その場合薬剤としての副作用 (関節炎など) への配慮も必要である。

さらに、思春期一過性女性化乳房症との鑑別のために経過観察となった症例の取り扱いについても検討する必要がある。観察の間隔や進行性病変との判断をくらすための方法などを示す必要がある。

診断確定後の遺伝カウンセリングも必要であり、その体制と資料、説明項目などについて検討すべきである。本研究班で集積した情報を整理して、患者説明に用いることができるようにする必要がある。

#### 関連学会との調整

今回の診断手引きを小児内分泌学会、内分泌学会など各関連学会に提示し、意見を求めて最終案を作成する作業を行う必要がある。

#### E. 結論

2010 年度以降の研究成果に基づいて、臨床的診断基準案を作成した。本案は、特殊な検査を行うことなく遺伝性女性化乳房症患者を拾い上げる基準として作成された。臨床的診断後には、細胞遺伝学的診断を進め診断を確定して、薬物治療を行える体制を整えていく必要がある。患者家系では、適切なカウンセリングを行い、発症前診断および早期治療につなげることができる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 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; 96:E1035-1043.
2. Usui H, Kaku H, Kihara M, Shozu M. Molecular distinction of consecutive molar pregnancies. *Obstet Gynecol* 2011; 117:492-495.
  3. 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; 2:29-42.
  4. Nakamura M, Mitsunashi 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; 37:366-369.
  5. Nakada E, Nakada TA, Walley KR, McConechy M, McLaughlin L, von Dadelszen P, Shozu M, Boyd JH. mRNA induces RANTES production in trophoblast cells via TLR3 only when delivered intracellularly using lipid membrane encapsulation. *Placenta* 2011; 32:500-505.
  6. Kato K, Tate S, Uehara T, Usui H, Mitsunashi A, Shozu M. The application of a newly developed linear stapler preloaded with tissue reinforcement for distal pancreatectomy in the management of ovarian cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2011; 32:579-581.
  7. Ishikawa H, Kiyokawa T, Takatani T, Wen WG, Shozu M. Giant multilocular sex cord tumor with annular tubules associated with precocious puberty. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 206(1):e14-16.
  8. Fukami M, Shozu M, Ogata T. Molecular Bases and Phenotypic Determinants of Aromatase Excess Syndrome. *Int J Endocrinol*. 584807. 2012
  9. 生水真紀夫, 碓井宏和. 特集・不妊診療のすべて 卵巣とアロマターゼ. *産婦人科治療* 2011. 102 増刊 ; 52-60 (466-474)
  10. 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.
  11. 深見真紀, 曾根田瞬, 加藤英弥子, 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*.2011 June; 87(Supplement): 94-97
  12. oHonda SI, Wakatsuki T, Harada N. Behavioral analysis of genetically modified mice indicates essential roles of neurosteroidal estrogen. *Front Neuroendocrinol* 2011; 2. Article 40 (open access journal)
  13. Honma N, Saji S, Hirose M, Horiguchi SI, Kuroi K, Hayashi SI, Utsumi T, Harada N. Sex steroid hormones in pairs of tumor and serum from breast cancer patients and pathobiological role of androstene-3beta, 17beta-diol. *Cancer Sci* 2011.
  14. 藤野このみ(城西大学 薬学部臨床病態学講座), 横田千津子 糖尿病腎症発症・増悪に対する TNF- $\alpha$  およびその阻害薬の影響 糖尿病 (0021-437X) 2011.04; 54 巻 Suppl.1: PageS-328.
  15. Sugihara S, Ogata T, Kawamura T, Urakami T, Takemoto K, Kikuchi N, Takubo N, Tsubouchi K, Horikawa R, Kobayashi K, Kasahara Y, Kikuchi T, Koike A, Mochizuki T, Minamitani K, Takaya R, Mochizuki H, Nishii A, Yokota I, Kizaki Z, Mori T, Shimura N, Mukai T, Matsuura N, Fujisawa T, Ihara K, Kosaka K, Kizu R, Takahashi T, Matsuo S, Hanaki K, Igarashi Y, Sasaki G, Soneda S, Teno S, Kanzaki S, Saji H, Tokunaga K, Amemiya S. HLA-class II and class I genotypes among Japanese children with Type 1A diabetes and their families. *Pediatric diabetes* 2011.
  16. 西村直子, 遠藤有里, 南前恵子, 木村真司, 高梨都, 堀川玲子, 田中敏章, 有阪治, 神崎 晋, 花木啓一. 低身長児が自分の身長に抱くイメージと心理社会的適応の関連:対面式イメージ身長評価法を用いて. *日本成長学会雑誌* 17 (1); 33-40, 2011.
  17. 木村真司, 遠藤有里, 南前恵子, 鈴木康江, 西村直子, 谷本弘子, 花木啓一. 小児の食行動の特徴と肥満発症の関連:イラスト選択法と質問紙法を用いた食行動評価の試み. *肥満研究* 17(1); 54-61, 2011.
  18. oNukatsuka M, Saito H, Nakagawa F, Abe M, Uchida J, Shibata J, Matsuo K, Noguchi S, 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* 2011; 128: 381-390.
  19. 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* 2011; 126: 443-451.
20. Naoi Y, Kishi K, Tanei T, Tsunashima R, Tominaga N, Baba Y, Kim SJ, Taguchi T, Tamaki Y, 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* 2011; 128: 633-641.
  21. Naoi Y, Kishi K, Tanei T, Tsunashima R, Tominaga N, Baba Y, Kim SJ, Taguchi T, Tamaki Y, 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; 117: 472-479.
  22. 碓井宏和、中島名津子、木原真紀、加来博志、生水真紀夫. 特集 婦人科がん妊孕性・卵巣機能温存治療と妊娠・分娩「胎状奇胎後の妊娠」. 産婦人科の実際 2011.2.1 ; 60 (2) : 217-221
2. 学会発表・講演会
1. 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、神埼晋、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 例の分子遺伝学および臨床的解析. 第 84 回日本内分泌学会学術総会. 2011.4.21-22 (神戸)
  2. 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. 2011.7.22-23 (東京)
  3. 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. 2011.8.31-9.2 (佐賀)
  4. 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. 2011.9.10 (東京)
  5. 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. 2011.10.1 (北海道)
  6. 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. 2011.11.5 (神戸)
  7. 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. 2011.11.11 (千葉)
  8. H.Usui, M.Kihara, H.Kaku, Q.Jia, H.Matsui, M.Shozu. Management and Outcome of Women with Gestational Trophoblastic Neoplasia without a Clinically Detectable Tumor . XVIth World Congress on Gestational Trophoblastic Diseases . 2011.10.16-19 (Budapest)
  9. 深見真紀. PORD Update. スプリングセミナー—2011. 2011.5.27-29 (大阪)
  10. 深見真紀. 先天性内分泌異常症を招くゲノム微細構造異常: CGH 解析による新たな疾患成立機序の解明. アジレントゲノミクスフォーラム. 2011.6.14 (東京)
  11. 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. 第 45 回小児内分泌学会学術集会教育セミナー. 2011.10.6 (大宮)
  12. 深見真紀. 小児内分泌疾患の分子遺伝学: 最近の進歩と今後の展望. 静岡県小児内分泌学術講演会. 2011.12.1 (浜松)
  13. 深見真紀. チトクローム P 450 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. 第 16 回生殖内分泌学会学術集会シンポジウム. 2011.11.19 (東京)
  14. 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)
  15. Soneda S, Fukami M, Ogata T. Identification of the Promoter Region for Cytochrome P450 Oxidoreductase Gene. ENDO annual meeting, June 4-7, 2011 (Boston)
  16. 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. 50<sup>th</sup> annual ESPE meeting, 25-28 September, 2011 (Glasgow)

17. Ogata T, Soneda S, Fukami M.  
Identification and characterization of the  
promoter region for cytochrome P450  
oxidoreductase gene. 50<sup>th</sup> annual ESPE  
meeting, 25-28 September, 2011 (Glasgow)

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

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 国立成育医療研究センター研究所 部長 深見真紀

研究要旨

平成 23 年度には下記の成果を挙げた。

(1) 患者のアレイ CGH 解析に基づき、遺伝性女性化乳房の発症に NAHR、NHEJ、FoSTes によって生じる CYP19A1 遺伝子周辺の多様なゲノム微細構造異常が関与することを明確とした。

(2) 本症の乳房腫大と骨年齢促進の重症度はゲノム異常の種類に相関するが、ゴナドトロピン分泌障害の程度は全患者で同等であることを明らかとし、比較的軽度の循環血中エストロゲン増加が下垂体における FSH を強く抑制することを見出した。

(3) 本症の治療にアロマターゼ阻害剤が有用であることを見出した。

以上の成果は、遺伝性女性化乳房患者の早期診断とよりよい治療法の選択に役立つと期待される。

共同研究者

なし

他の厚生労働省研究班との連携

本研究は、厚生労働省 難病・がん等の疾患分野の医療の実用化事業（小児科・産科領域の大規模遺伝子配列解析による病因解明とゲノム解析拠点整備）と連携して研究を推進した。

A. 研究目的

遺伝性女性化乳房は、重度の乳房腫大、性腺機能障害などにより QOL 低下を招く難治疾患である。本研究の目的は、遺伝性女性化乳房患者の分子遺伝学的解析により、本症の発症機序を解明することである。さらに、本症の疾患重症化因子を同定し、疾患予後予測法やよりよい治療法の開発に貢献することを目指す。

これまでにわれわれは、独自に開発したカスタムアレイ Comparative genomic hybridization (CGH) を用いて 6 家系 18 例の解析を行い、本症の発症に由来知られている染色体逆位だけでなくアロマターゼ遺伝子(CYP19A1)プロモーター領域の微小重複

および CYP19A1 上流の微小欠失が関与することを明確とした。

平成 23 年度は、初年度の疫学調査で把握された新規患者の遺伝子解析を行った。また、これまでに同定されたゲノム異常陽性患者の遺伝子型—表現型解析を行い、変異パターンと疾患重症度の関連について検討した。

B. 研究方法

1. 新規患者の遺伝子解析

本研究班でこれまでに確立した 15q11.2–q26.3 領域に対応するカスタムアレイ CGH システムを用いて、新規患者のゲノムコピー数解析を行った。コピー数異常が同定された患者では、可能な限り切断点の塩基配列決定を行ってゲノム構造異常の発症機序について検討した。得られた塩基配列は NCBI BLAST Search (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) で解析した。

2. 遺伝子型—表現型解析

本研究班で同定した患者、および、既報告の染色体逆位に起因する遺伝性女性化乳房患者 4 家系の疾患重症度の比較を行った。臨床症状としては、乳