

外科的初期対応ならびに長期ケアに関する研究

研究分担者 島田 憲次 大阪府立母子保健総合医療センター泌尿器科部長

研究要旨

性分化疾患（DSD）の実態把握とそれに基づく治療指針作成研究のなかで、外科的初期対応の確立と外科的治療後の長期ケアを分担研究の目的とした。初期対応は高度に専門化されてチームが必要であり、全国的に外科的（泌尿器科的）対応可能な専門施設を選定し、関連学会ホームページに公開した。DSD 対応の専門化チームを立ち上げ、初期対応のみでなく思春期以降のケアにも焦点を当て、患者ならびに家族の会、セミナー等を企画・実施した。初期対応の手引きとして制作した DVD を増版し、関連施設、関連学会に配布した。

共同研究者

松本富美（大阪府立母子保健総合医療センター泌尿器科副部長）

A. 研究目的

性分化疾患（DSD）の実態把握とそれに基づく治療指針作成研究のなかで、外科的初期対応の確立とその成果、患児とその家族の長期的なケアを分担研究の目的とした。現在の我が国では、この病態に対する対応チームのなかには泌尿器科医、小児内分泌科医に加えて、長期的なケアのためには心理面でもサポートが要求され、子どものこころ科医、臨床心理士、専任看護師、セクシャリティーを受け持つカウンセラーなど多面的な取り組みが必要となる。今回は外科的対応の問題点と、長期ケアの方向性を検討した。

B. 研究方法

性分化疾患（DSD）の外科的初期対応のチームのなかには泌尿器科医、小児内分泌科医に加えて、長期的なケアも想定しておく必要がある。そのためには心理面でのサポートを目標として子どものこころ科医、臨床心理士、専任看護師、セクシャリティーを受け持つカウンセラーなど多面的な取り組みが必要となる。今回は研究協力者会議も通して外科的対応が可能な施設を選定するとともに、多種職に

よるセミナーを開催し、長期的なケアの問題点と今後の方向性を指摘した。また DSD 患者の会を立ち上げた。

（倫理面への配慮）

研究協力者会議への参加者、企画したセミナー講演者、家族の会には、研究目的と報告義務について説明し、了解を得た。

C. 研究結果

1、外科的初期対応とその実施が可能な施設：外科的初期対応は主として基礎疾患の確定にある。なかでも性腺の確認が基礎疾患診断の鍵となる混合型性腺異型性、真性半陰陽では、性腺生検を含めた早期の外科（泌尿器科）的検索が必要である。そのためには当該施設で全身麻酔下の内視鏡検査、腹腔鏡あるいは開腹による性腺の検索ならびに生検を加え得るとの条件が必要である。

日本小児泌尿器科学会では会員からの自薦・他薦により DSD 対応可能施設を選定し、小児内分泌学会、ならびに小児泌尿器科学会ホームページに公表した。これをもとに新生児期・乳児期早期の初期対応の重要性を関連学会に周知させている。

2、DSD 対応の専門家チーム：小児内分泌科、小児泌尿器科（小児外科）、子どものこころ科（小児精神科）、臨床心理士、MSW（medical social worker）、専任看護師、セクシャリティーを受け持

つカウンセラーという専門家チームが機能している研究分担者施設では、院内研究会「思春期に達したDSD症例」を3年前から開始し、すでに15回を数え、これを基にDSD患者ならびに家族に対する長期ケアに取り組み成果を挙げている。

3、DVD「性別不詳新生児の取り扱い」：本補助金で制作したDVDをさらに増版し、関連学会で配布した。日本未熟児新生児学会総会、日本小児内分泌学会、日本小児泌尿器科学会、日本内分泌学会、そして日本助産師学会で本DVDを宣伝のうえ配布し、いずれも好評を得た。英語版DVDは国際学会に発表、配布し、好評を得た。

4、DSD患者ならびに家族に対する多面的、長期的な取り組みに関しては、患者・家族の会（「母子センターCAHの会、およびDSDセミナー in Osaka」）を開催した。

D. 考察

DSD新生児・乳児に対する基礎病態の診断にはときに外科的対応を必要とすることがあるが、これまでその対応方法と対応可能な施設についての情報が全国的に欠如していた。そのためこの研究班ではこの時期における外科的対応方法と、それが可能な施設を、小児泌尿器科学会を中心に選定した。

DSDに対する外科的初期対応の確立に関しては、この疾患を扱う外科（泌尿器科）施設を全国から研究協力者会議に招き、問題点を検討して統一を図った。また、外科的初期対応が可能な施設を小児泌尿器科学会ならびに小児泌尿器科学会ホームページに公表した。これによりDSD患者ならびに家族の援助に大きく貢献できる体制を整えることができると期待している。

本疾患の初期対応を統一する目的でDVD「性別不詳新生児の取り扱い」を研究助成金で制作し、全国の関連施設ならびにDSDを扱う関連学会にて配布した。これは平成22年度の本研究補助金で初めて作成したものであるが、その後も本DVDを希望する施設が多く、増版が必要であった。

DSD患者ならびに家族に対する多面的、長期的な取り組みに関しては、患者・家族の会（「母子セ

ンターCAHの会、およびDSDセミナー in Osaka」）を開催した。パイロットスタディとして分担研究者施設で小児内分泌科、小児泌尿器科（小児外科）、子どものこころ科（小児精神科）、臨床心理、MSW（medical social worker）、専任看護師、セクシャリティーを受け持つカウンセラーという専門家チームで思春期に達したDSD症例の検討会を立ち上げ、効果を上げている。また、家族に対する長期的な取り組みを効果的に進めるためには、疾患の理解が得られ易いような教育的資料を作る必要がある。これは次年度の研究事業として取り組む予定である。

E. 結論

性分化疾患の実態把握とそれに基づく治療指針作成研究のなかで、外科的初期対応の確立と外科的治療後の長期ケアを分担研究の目標とした。初期対応は高度に専門化されてチームが必要であり、全国的に外科的（泌尿器科的）処置が対応可能な専門施設を選定し、関連学会ホームページに公開した。DSD対応の専門化チームを立ち上げ、初期対応のみでなく思春期以降のケアにも焦点を当て、患者ならびに家族の会、セミナー等を企画・実施した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fumi Matsumoto, Katsuji Yamauchi, Futoshi Matsui, Kenji Shimada. Acquired cryptorchidism in a boy with disorder of sex development. Clin Pediatr Endocrinol, 21(1), 1-3, 2012

2. 松本富美、小林憲市、鬼武美幸、島田憲次. 陰嚢水腫、精巣捻転、停留精巣. 「小児内科」44巻増刊号, p664-665, 2012

2. 学会発表

1. 松本富美、小林憲市、鬼塚千衣、島田憲次. Ascending testisを合併したDSD症例の検討. 第21回日本小児泌尿器科学会. 平成24年7月6

日 岡山

2. 松本富美、小林憲市、鬼塚千衣、島田憲次、位田忍、中山雅弘.Y 染色体を有する両側 streak gonad のDSD症例における性腺腫瘍の発生について. 第46回日本小児内分泌学会, 平成24年9月29日 大阪
3. Fumi Matsumoto, Kenichi Kobayashi, Chie Onizuka, Kenji Shimada. Acquired cryptorchidism in boys with disorders of sex development. 14th Annual Congress of APAPU. 6 Oct. 2012, Busan
4. Fumi Matsumoto. Cryptorchidism: What should we consider in adults and adolescents who have been treated as children? 14th Annual Congress of APAPU. 7 Oct. 2012, Busan
5. 島田憲次、松本富美、鬼武美幸：外科的治療を加えられた性分化疾患の長期的なケア、第49回日本小児外科学会総会、2012年5月14日、横浜
6. 島田憲次：性分化疾患の考え方、とらえ方の移り変わり、DSDセミナー in Osaka、2012年9月29日、大阪
7. 島田憲次：性分化疾患と性腺組織、第32回日本小児病理研究会 2012年9月8日、大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

1) セミナー実施：「DSDセミナー in Osaka」
2012年9月29日 大阪国際会議場

2) 家族の会：「母子センターCAHの会」の開催
2012年7月28日 大阪府立母子保健総合医療センター

専門的医師による DSD 外科系診療の実態調査

研究分担者 中井 秀郎 自治医科大学とちぎ子ども医療センター 教授

研究要旨

性分化疾患における外科的対応について、現状把握のために 31 名の小児泌尿器科医師を対象として、①性腺・内性器に対する外科的検査（腹腔鏡検査・生検）、②性腺に対する外科的治療（腹腔鏡下摘出）、③内性器に対する外科的治療（前立腺小室切除、総排泄腔遺残に対する膣形成）、④外性器に対する外科的治療（停留精巣合併の尿道下裂形成術、外陰膣形成）についてアンケート調査を行った。その結果、各施設における実績や、地域偏在性を明確に把握できた。これを基に、小児泌尿器科学会において、よりよい性分化疾患の外科的管理について議論を進める予定である。

A. 研究目的

DSD の治療指針作成を目指す研究では、臨床現場における外科的対応のこれまでの実績を把握する必要がある。小児泌尿器科学会による専門的医師の選定は、自薦に基づいているため、これらの医師の実績を調査することが求められた。最終的には、近い将来に、認定基準を整備することが望まれる。

B. 研究方法

表 1 に示す 31 名の相談窓口医に、以下に示す内容の手術の実績（症例数）を質問した。すなわち、①性腺・内性器に対する外科的検査（腹腔鏡検査・生検）、②性腺に対する外科的治療（腹腔鏡下摘出）、③内性器に対する外科的治療（前立腺小室切除、総排泄腔遺残に対する膣形成）、④外性器に対する外科的治療（停留精巣合併の尿道下裂形成術、外陰膣形成）を調査項目とした。

C. 研究結果

31 名の 31 施設のうち 19 施設から回答を得た（表 2）。実績の症例数は一部の施設で、過剰に多いものがあるが、診断基準の相違によるものと思われる。

19 施設中、3 年間にまったく実績を持たない施

設が 3 施設認められた。また表に掲載された 19 施設を除く、残り 12 施設からは回答が得られず、その施設では実績が少ない可能性が示唆される。

国内の分布は、関東地方、関西地方に集中している傾向があり、九州、四国、中国、甲信越、東北地方には、回答した相談窓口医が過少であった（図 1）。

臨床現場への研究成果の活用

集計結果を小児泌尿器科学会理事会、小児内分泌学会 DSD 委員会に公表した。今後の専門医認定方法や外科的治療の標準化の開発に向けて活用することになった。

D. 考察

今回の調査により、はじめて、小児泌尿器の相談医の実態調査がなされた。この成果は、日本小児内分泌学会の性分化委員会が少数の専門家集団から構成されることを考慮し、今後、日本小児泌尿器科学会としても、より経験の豊富な医師に相談医として関与してもらえるように議論を整理することに結実すると考えられる。

E. 結論

性分化疾患における外科的対応について、現状

把握のために31名の小児泌尿器科医師を対象として、①性腺・内性器に対する外科的検査（腹腔鏡検査・生検）、②性腺に対する外科的治療（腹腔鏡下摘出）、③内性器に対する外科的治療（前立腺小室切除、総排泄腔遺残に対する膣形成）、④外性器に対する外科的治療（停留精巣合併の尿道下裂形成術、外陰膣形成）についてアンケート調査を行った。その結果、各施設における実績や、地域偏在性を明確に把握できた。これを基に、小児泌尿器科学会において、よりよい性分化疾患の外科的管理について議論を進める予定である。

G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

F. 健康危険情報

該当なし

表1. 小児泌尿器科学会 DSD 相談窓口医（2013年1月現在）

青木 勝也	奈良県立医科大学	泌尿器科
井川 靖彦	東京大学	泌尿器科
大塩 猛人	国際医療福祉大学病院	小児外科
大島 一寛	弘医会 福岡鳥飼病院	泌尿器科
柿崎 秀宏	旭川医科大学	泌尿器科
兼松 明弘	京都大学大学院医学研究科	泌尿器科
鯉川 弥須宏	福岡市立こども病院・感染症センター	泌尿器科
後藤 隆文	国立病院機構 岡山医療センター	小児外科
坂井 清英	宮城県立こども病院	泌尿器科
坂本 亘	大阪市立総合医療センター	泌尿器科
佐藤 裕之	東京都小児総合医療センター	泌尿器科
島 博基	兵庫医科大学	泌尿器科
島田 憲次	大阪府立母子保健総合医療センター	泌尿器科
上仁 数義	国立法人 滋賀医科大学	泌尿器科
杉多 良文	兵庫県立こども病院	泌尿器科
杉本 周路	豊仁会三井病院	泌尿器科
宋 成浩	獨協医科大学越谷病院	泌尿器科
武田 正之	山梨大学医学部	泌尿器科
多田 実	埼玉県立小児医療センター	泌尿器科
辻 克和	社会保険中京病院	泌尿器科
中井 秀郎	自治医科大学 とちぎ子ども医療センター	泌尿器科
野々村 克也	北海道大学大学院医学研究科	泌尿器科
西澤 秀治	長野市民病院	泌尿器科
林 祐太郎	名古屋市立大学大学院医学研究科	泌尿器科
本間 澄恵	千葉県こども病院	泌尿器科
松井 太	大阪府立母子保健総合医療センター	泌尿器科
松本 富美	大阪府立母子保健総合医療センター	泌尿器科
山口 孝則	福岡市立こども病院・感染症センター	泌尿器科
山崎 雄一郎	神奈川県立こども医療センター	泌尿器科
山高 篤行	順天堂大学医学部	小児外科
吉野 薫	愛知県立あいち小児保健医療総合センター	泌尿器科

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

表2.最近3年間の施設別の DSDの外科的対応症例数(19施設)

施設	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	総計
性腺・内性器に対する外科的検査 腹腔鏡検査または性腺生検が行われた 性腺形成異常または性腺機能不全の症	0	3	3	2	0	0	10	1	19	19	6	83	9	19	4	2	2	2	0	184
性腺に対する外科的治療 腹腔鏡下精巣固定術または性腺摘出術 が行われた性腺形成異常または性腺機 能不全の症例数	2	3	5	0	2	0	5	1	7	15	2	2	6	7	2	1	2	67	0	129
内性器に対する外科的治療 拡大前立腺小室切除術が行われた性分 化疾患の症例数	0	0	0	0	1	0	3	0	1	0	0	2	4	0	0	0	0	1	2	14
総排泄腔遺残に対する膣形成術が行わ れた症例数	0	6	0	0	0	0	4	1	1	1	3	0	3	1	0	0	1	2	0	23
外性器に対する手術 片側または両側性の非触知精巣を合併 する尿道下裂に対する形成術	0	0	5	0	1	2	6	1	0	6	3	2	1	2	1	3	4	8	0	45
女児外陰膣形成術and/or造膣術	4	4	5	1	1	0	11	3	5	5	2	4	20	2	0	1	1	2	0	71

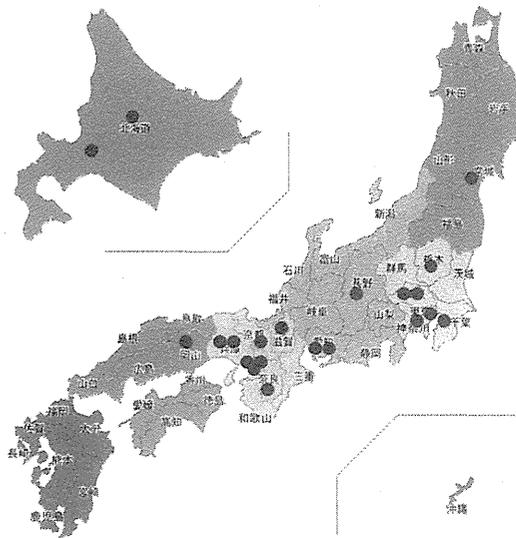


図1. 性分化疾患相談医の国内分布

遺伝子解析による性分化疾患の病態解明

研究分担者（独）国立成育医療研究センター分子内分泌研究部 部長 深見真紀

研究要旨

性分化疾患の病態解明を目的として、141例の遺伝子解析を行った。Comparative genomic hybridization を用いた全ゲノムコピー数解析では、性分化疾患の原因の一部を潜在性ゲノム微細構造異常が占めること、および、染色体微細欠失が隣接遺伝子欠失症候群の一部として性分化疾患を招くことが見出された。カスタムアレイを用いた特定領域のコピー数解析では、*SOX9* 組織特異的エンハンサーの限局化、アロマターゼ過剰症の新規発症機序の解明がなされた。

次世代シーケンサーを用いた変異解析では、ターゲットエンリッチメントおよびアンプリコンシーケンスが性分化疾患の変異スクリーニングに有用であることが明らかとなった。さらに、重症度の異なる性分化疾患における既知遺伝子変異の寄与が明確となり、新規性分化疾患候補領域と候補遺伝子塩基置換が見出された。今後、これらの候補遺伝子および領域の解析により、性分化疾患の新たな発症機序が解明されると期待される。

研究協力者

五十嵐麻希（国立成育医療研究センター 分子内分泌研究部・研究員）

宮戸真美（国立成育医療研究センター 分子内分泌研究部・研究員）

他の研究班との連携

本研究は、難病がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業「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」班（研究代表者：梅澤明弘、研究分担者：深見真紀）、新学術領域研究「性差構築の分子基盤」班（計画研究代表者：緒方勤、計画研究分担者：深見真紀）、および、成育研究開発事業「成育希少疾患の症例登録と予後追跡」（研究代表者：深見真紀、研究分担者：緒方勤）と連携して研究を推進した。

A. 研究目的

本研究の目的は、最新の分子遺伝学的技術を用いた遺伝子解析によって、性分化疾患への既知遺伝子変異の関与の程度を明確とし、さらに新たな発症機序を解明することである。

性分化疾患は、遺伝的異質性を有する疾患である。こ

れまで、本症の原因遺伝子として、*SRY*、*SOX9*、*AR*、*SRD5A2*など複数の遺伝子が同定されている。また、染色体微細構造異常が本症の発症に関与することが見出されている。一方、これらの異常を認めない症例が多数報告されていることから、本症の発症には未知の機序の関与が大きいことが示唆される。

近年、アレイ Comparative genomic hybridization (CGH) や次世代シーケンサーに代表される新たな遺伝子解析技術が開発された。これらの技術を用いることにより、従来検出困難であった遺伝子異常の同定、および、多数の検体を対象とした網羅的解析が可能になった。

本研究班では、全国の臨床医、関連学会との連携により、性分化疾患患者の検体を集積している。さらに、国立成育医療研究センターは、難病がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の拠点として、3台の次世代シーケンサー、1台のCGHスキャナを含む最新の機器を有している。本年度は、141例の性分化疾患患者を対象として遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

1. 検体集積

本年度は、新たに 103 の臨床検体(血液もしくは手術サンプル)を集積した。検体は、国内外の医療機関の連携研究者によって集積された。なお、検体採取にあたっては、検体採取機関でインフォームドコンセント・アセントの取得を行い、連結可能匿名化が行われた。国立成育医療研究センターではすべて匿名化番号で検体を管理した。国立成育医療研究センターでは、通常の方法で核酸を抽出した。また、可能な限り EB ウイルス感染不活化リンパ芽球様細胞株または線維芽細胞株を樹立し、十分な核酸を確保した。

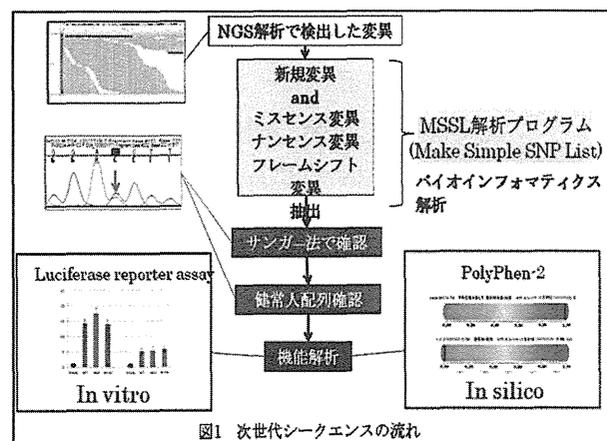
2. CGH アレイ解析

全染色体領域を対象とする 18 万のオリゴプローブを搭載したマイクロアレイ(カタログアレイ、Agilent technologies 社)を用いて、ゲノムコピー数解析を行った。また、アロマターゼ過剰症など特定染色体領域の異常が疑われる症例では、当該領域を対象とするカスタムアレイを作成して解析した。本解析では、標識した患者 DNA とコントロール DNA を競合的にハイブリダイズさせ、患者において増幅または欠失している領域を検出した。

3. 次世代シーケンサーを用いた変異解析

次世代シーケンサーを用いて既知性分化発症責任遺伝子と候補遺伝子変異スクリーニングを行った。候補遺伝子としては、遺伝子機能やノックアウトマウスの表現型などから性分化への関与が疑われる遺伝子を選択した。本研究では第 1 に、比較的重度の症状を呈する症例(完全女性型外性器を有する 46,XY 患者、男性型外性器を有する 46,XX 患者などを含む)を対象として 122 遺伝子の遺伝子についてターゲットエンリッチメント(Agilent technologies 社 Sureselect kit を使用)を行った。つぎに、比較的軽症例(尿道下裂もしくは停留精巣を有する 46,XY 患者)を対象として、20 遺伝子のアンプリコンシーケンシス(Illumina 社 Truseq amplicon sequence を使用)を行った。シーケンシスデータの取得には、Illumina 社 HiSeq1000 および MySeq を使用した。バイオインフォマティクス解析として、独自の解析プログラム(MSSL)を使用し、既報の非病原性多型およびアミノ酸変化を伴わない塩基置換を除外した(図 1)。疾患に関与する可能性があると判定された塩基置換は、サンガー法シーケンシスで

確認した。また、日本人特異的多型を除外するため、コントロール 100 名の解析を行った。



(倫理面への配慮)

本研究は、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針(H17.6.29)を遵守して実施している。これに関して、国立成育医療研究センター倫理委員会において、性分化疾患・性成熟疾患における遺伝的原因の探索(受付番号 512、平成 23 年 9 月 23 日承認)、および、『小児内分分泌疾患患者登録システム』の確立と推進に関する研究(受付番号 637、平成 24 年 11 月 14 日承認)が承認されている。同意は全て患者本人もしくは両親から書面で取得され、同意書および患者と匿名化番号の対応表は、各施設の個人情報管理者により厳重に保管されている。この規定の遵守については、毎年、外部委員の監査を受けている。

C. 研究結果

1. 検体集積

これまでに集積された性分化疾患検体の合計は、約 600 となった。これには、さまざまな重症度の 46,XX 性分化疾患、46,XY 性分化疾患症例、また、性分化疾患に先天奇形や内分泌異常などの合併症を認める症例が含まれる。

2. CGH 解析

2-1 46,XY 性分化疾患患者におけるコピー数異常の同定

24 例の外性器異常を有する 46,XY 症例を対象として、全ゲノム CGH を行った。その結果、4 例において 1.5 Mb

以上の微細欠失を同定した(図2)。症例1と2では、それぞれ9p24.1-24.3の約5, 約8.5 Mbの領域、症例3では20p13の約2.0 Mb領域、症例4では2q31.1-32の約18.0 Mb領域が欠失していた。症例1と2の欠失領域には既知性分化遺伝子 *DMRT1* が、症例4の欠失領域には外陰部と四肢の形成に関与する *HOXD* クラスターが包含されていた。症例3の欠失領域には、既知性分化関連遺伝子は存在しなかった。症例1は発達遅滞と統合失調症、症例2は発達遅滞と特異顔貌、症例3は低身長、症例4は四肢奇形、発達遅滞、低身長、特異顔貌の合併を認めた。

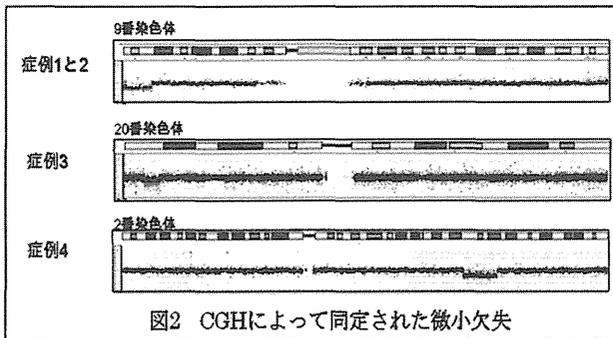


図2 CGHによって同定された微小欠失

2-2 性分化疾患患者および先天奇形症候群患者における *SOX9* 上流欠失の同定

SOX9 の機能喪失変異は、Campomelic dysplasia、Pierre Robin sequence (PRS)、XY 性分化疾患を生じることが知られている。近年、*SOX9* 遺伝子近傍のゲノム異常が *SOX9* 翻訳領域内変異と同等の表現型を招くことが見出された。本研究では、*SOX9* 翻訳領域に異常がない PRS と 46,XY 性分化疾患患者 16 例を対象に *SOX9* 周辺領域の CGH 解析を行った。その結果、性分化疾患を伴わない PRS 症例 1 例(症例 1)で *SOX9* 遺伝子から約 1.2 Mb 離れた約 3.0 Mb の欠失、XY 性分化疾患患者 1 例(症例 2)で *SOX9* 遺伝子から約 500 kb 離れた約 500 kb の欠失を同定した。症例 2 の性腺は、卵巣間質様組織の増生と石灰化を伴うセミノーマであった。欠失領域のバイオインフォマティクス解析では、多数の異種間保存配列が同定された。

2-3 アロマターゼ過剰症を招くゲノム微細構造異常の同定

アロマターゼ過剰症(AECS)は、男性性腺機能障害と

乳房腫大を主徴とする常染色体優性遺伝疾患である。本症は、アロマターゼ遺伝子(*CYP19A1*)の過剰発現に起因するエストロゲン過剰産生によって生じる。われわれはこれまでに、6 家系 18 例の患者において *CYP19A1* プロモーター領域の重複および *CYP19A1* 上流の微細欠失を同定している。重複陽性患者では転写開始点の増加が、欠失陽性患者では広範発現性隣接遺伝子と *CYP19A1* からなるキメラ遺伝子の形成が *CYP19A1* 過剰発現を招くと推測される。

本研究期間には、新たに同定した 2 例(症例 1 と 2)を対象として、*CYP19A1* 周辺領域の CGH 解析を行った。その結果、症例 1 では *CYP19A1* 翻訳領域を包含する約 0.4 Mb の重複、症例 2 では *CYP19A1* の一部のエクソンを含む 130 kb 領域と *CYP19A1* から下流に約 3.6 Mb 離れた領域の約 340 kb 領域の重複を同定した(図3)。症例 2 の mRNA 解析では、プロモーター構造を有する *SEMA6D* エクソン 3 と *CYP19A1* 翻訳領域からなるキメラ遺伝子が検出された。症例 1 では、翻訳領域のコピー数増加、症例 2 では *SEMA6D* プロモーターの獲得が AECS の原因であると推測される。

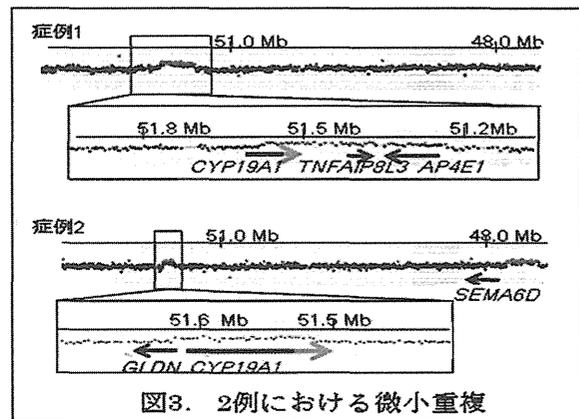


図3. 2例における微小重複

3. 次世代シーケンズ解析

3-1 122 遺伝子のターゲットエンリッチメント

ターゲットエンリッチメントにより、46 例中 7 例において、病的意義が明確な既知遺伝子変異 (*AR*, *SFI*, *SOX9*, *BNC2*) が同定された。さらに 15 例で候補遺伝子のアミノ酸変化を伴う塩基置換が同定された(図 4)。これは、多型データベースに登録のない塩基変化であり、さらに健康日本人コントロール 100 例には同定されなかった。これに基づき、同定された候補遺伝子変異の機能解析を開始した。なお、次世代シーケンサーで解析された塩基

置換のうち、約 80%が直接塩基配列決定で再現可能であった。

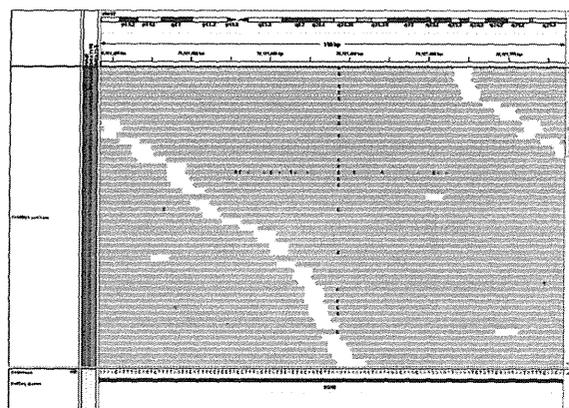


図 4. SOX9 ヘテロ塩基置換の同定

3-2 20 遺伝子のアンプリコンシーケンス

95 例中 1 例で病的意義を有すると推測される既知遺伝子 (AR) 変異、5 例で候補遺伝子のアミノ酸変化を伴う新規塩基置換が同定された。

D. 考察

1. CGH 解析

CGH 解析によって以下の成果が得られた。第 1 に、46,XY 性分化疾患 24 例中 4 例で染色体微細欠失が同定された。このことから、性分化疾患発症に潜在性ゲノム構造異常の寄与が大きいことが明確となった。さらに、欠失陽性患者の臨床像から、さまざまな座位の微細欠失が隣接遺伝子症候群の症状の一つとして性分化疾患を招くことが見出された。CGH では 1 回の解析で全染色体領域のコピー数の検討が可能であることから、本法は原因不明の性分化疾患患者の臨床遺伝子診断に有用であると考えられる。とくに、合併症を有する患者における臨床検査として有用性が高いと考えられる。なお、症例 3 の結果から、20 番染色体に新たな性分化責任遺伝子が存在する可能性が見出された。現在、この領域に含まれる 36 遺伝子について、発現パターンと機能の検討を行っている。

第 2 に、SOX9 上流欠失陽性患者の CGH 解析から、SOX9 の頭頸部骨、長管骨、精巣における発現が、それぞれ異なるエンハンサーによって支配されていることが明確となった。SOX9 より 1Mb 以上離れた領域に頭頸部骨

特異的エンハンサーが、症例 2 の欠失範囲内に精巣特異的エンハンサーが存在すると推測される。また、症例 1、2 および既報告例のデータから、長管骨における主要エンハンサーが SOX9 翻訳領域から 500 kb 以内に存在することが示唆される。この成績は、SOX9 遺伝子発現調節異常が、さまざまな表現型に関与しうることを明確にするものである。今後、これらの領域内に存在する異種間保存配列の解析により、SOX9 の組織特異的エンハンサーが単離されると期待される。

第 3 に、AEXS の原因として、CYPI9A1 翻訳領域を含む重複と、SEMA6D-CYPI9A1 キメラ遺伝子の形成がはじめて見出された。これまでの報告と統合すると、AEXS は、① CYPI9A1 プロモーター数のコピー数増加、② CYPI9A1 翻訳領域のコピー数増加、③少なくとも 6 つの異なる遺伝子とのキメラ遺伝子の形成によって生じると推測される。これは、ヒトゲノム病のあらたなモデルを示すものである。今後、この領域のゲノム構造解析により、多彩なゲノム構造異常を招く DNA モチーフが明確になると期待される。

2. 次世代シーケンス解析

本研究によって、次世代シーケンサーを用いた変異スクリーニングが、性分化疾患患者における既知遺伝子解析および新規発症機序の解明にきわめて有用であることが明確となった。ターゲットエンリッチメントおよびアンプリコンシーケンスでは、コストは従来のサンガー法の 1/5 以下、作業量は 1/10 以下となることから、性分化疾患のような比較的患者数が多く、遺伝的異質性が高い疾患の解析に適している。この方法は、今後の臨床検査としての遺伝子診断にも応用可能である。また、今後多数の患者の解析がなされれば、その成果は、既知疾患変異陽性患者の臨床的多様性の解明、疾患重症度決定因子の同定、性分化疾患発症における oligogenecity の関与の解明、日本人特異的変異の同定などにつながる可能性がある。

なお本研究では、重度の表現型を有する性分化疾患患者 46 例中 7 例、軽度の患者 95 例中 1 例において、病的意義が明確な既知遺伝子変異が同定された。このような変異の同定は、当該患者における予後予測、遺伝カウンセリング、適切な治療法の選択に役立つ。一方、全

患者の中で変異陽性患者の割合が比較的良かったことから、性分化疾患、とくに軽度の表現型を有する症例の発症機序には既知遺伝子変異の寄与が少ないことを示唆する。これらの患者の性分化疾患発症には、未知の遺伝子変異もしくは環境因子への暴露が関与すると予想される。

重要な点として、141 例中 20 例では、候補遺伝子のアミノ酸変化を伴う塩基置換が同定されたことが挙げられる。これには、ノックアウトマウスの症状などから性腺形成に関与すると想定される遺伝子が含まれる。現在、*in silico* 機能予測と細胞を用いた *in vitro* 実験によってこれらの塩基置換の病的意義の検討を行っている。この成果は、あらたな性分化疾患原因遺伝子の単離につながると期待される。

E. 結論

性分化疾患患者 141 例の解析から、①性分化疾患の原因としてのゲノム微細構造異常の重要性、②遺伝子発現調節異常症としての性分化疾患の存在、③性分化疾患の遺伝子解析における次世代シーケンサーの有用性が明確となった。さらに、性分化疾患発症に関与する可能性がある新規微細欠失および複数の候補遺伝子塩基置換が同定された。

今後、本年度の研究成果の発展、また、すでに集積済みの他の約 450 例の検体の解析により、性分化疾患の新たな発症機序が解明されると予想される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Qin XY, Sone H, Kojima Y, Mizuno K, Ueoka K, Muroya K, Miyado M, Hisada A, Zaha H, Fukuda T, Yoshinaga J, Yonemoto J, Kohri K, Hayashi Y, Fukami M, Ogata T. Individual variation of the genetic response to bisphenol a in human foreskin fibroblast cells derived from cryptorchidism and hypospadias patients. PLoS One 7(12):e52756.2012
2. 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 153(12):6033-40, 2012
3. 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)
4. Ayabe T, Matsubara K, Ogata T, Ayabe A, Murakami N, Nagai T, Fukami M. Birth Seasonality in Prader-Willi Syndrome Resulting from Chromosome 15 Microdeletion. Am J Med Genet 2013 (in press)
5. Qin X-Y, Miyado M, Kojima Y, Zaha H Akanuma H, Zeng Q, Yoshinaga J, Yonemoto J, 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.
6. 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.
7. Nagasaki K, Iida T, Sato H, Ogawa Y, Kikuchi T, Saitoh A, Ogata T, Fukami M: PRKARIA mutation affecting cAMP-mediated G-protein-coupled receptor signaling in a patient with acrodysostosis and hormone resistance. J Clin Endocrinol Metab 97 (9): E1808-1813, 2012.
8. 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
9. Ogata T, Sano S, Nagata E, kato F, Fukami M: MAMLD1 and 46,XY disorders of sex development. Semi Reprod Med 30 (5): 410-416, 2012.

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

10. Fukami M, Homma K, Hasegawa T, Ogata T. Backdoor pathway for Dihydrotestosterone Biosynthesis: Implications for normal and abnormal human sex development. Dev Dyn. 2013 (in press)
2. 学会発表
1. 五十嵐麻希, Dung Chi Vu, 小島祥敬, 堀川玲子, 緒方勤, 深見真紀. 次世代遺伝子解析技術を用いた性分化疾患 141 例の病因解析. 第 17 回日本生殖内分泌学会学術集会, 東京, 2012.12.08
 2. Igarashi M, Kato F, Tsuji Y, Hasegawa Y, Ogata T, Fukami M. Silent mutations of androgen receptor gene in two patients with partial androgen insensitivity syndrome. Sixth international symposium on the biology of vertebrate sex determination, Hawaii, 2012.04.25
 3. 五十嵐麻希, Dung Chi Vu, 小島祥敬, 堀川玲子, 緒方勤, 深見真紀. 次世代遺伝子解析技術を用いた性分化疾患 141 例の病因解析. 第 46 回日本小児内分泌学会学術集会, 大阪, 2012.09.27
 4. 五十嵐麻希, Dung Chi Vu, 小島祥敬, 堀川玲子, 中林一彦, 秦健一郎, 緒方勤, 深見真紀. 次世代遺伝子解析技術を用いた性分化疾患 141 例の病因解析. 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 東京, 2012.10.26
 5. 五十嵐麻希, Dung Chi Vu, 小島祥敬, 堀川玲子, 中林一彦, 秦健一郎, 緒方勤, 深見真紀. 次世代遺伝子解析技術を用いた性分化疾患 142 例の病因解析. 第 35 回日本分子生物学会, 福岡, 2012.12.12
 6. Nagasaki K, Ogata T, Fukami M. PRKARIA mutation in a Japanese patient with pseudohypoparathyroidism type Ia-like phenotype. 51th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology 2012, Leipzig-Germany, 2012.9.22
 7. 長崎啓祐, 佐藤英利, 小川洋平, 菊池透, 緒方勤, 深見真紀. 偽性副甲状腺機能低下症 Ia 型と類似の臨床像を呈する女兒に同定した新規 PRKARIA 変異例. 第 46 回日本小児内分泌学会学術集会, 大阪, 2012.9.28
 8. 長崎啓祐, 緒方勤, 深見真紀. ホルモン抵抗性を伴う Acrodyostosis の女兒における新規 PRKARIA 変異の同定と機能解析. 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 東京, 2012.10.24
 9. 綾部匡之, 深見真紀, 緒方勤, 川村智行, 浦上達彦, 菊池信行, 雨宮伸, 杉原茂孝. 小児インスリン治療研究会. 1 型糖尿病の出生季節性: 発症時年齢と VDR 遺伝子多型に関する検討. 第 46 回日本小児内分泌学会学術集会, 大阪, 2012.9.28
 10. 綾部匡之, 松原圭子, 深見真紀, 緒方勤, 村上信行, 永井敏郎. プラダーウィリ症候群の出生季節性. 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 東京, 2012.10.26
 11. 松原圭子, 柳田かえで, 佐藤智子, 鏡雅代, 永井敏郎, 緒方勤, 深見真紀. 15 番染色体母性片親性ダイソミーを伴う tetrasomy 15q 症例の分子遺伝学的解析. 第 35 回日本小児遺伝学会学術集会, 久留米, 2012.4.19
 12. Matsubara K, Fuke T, Kagami M, Nagai T, Ogata T, Fukami M. Risk assessment of advanced maternal age and assisted reproductive technologies in the development of Prader-Willi syndrome. ESPE, Germany, 2012.9.20-23
 13. 松原圭子, 柳田かえで, 佐藤智子, 鏡雅代, 永井敏郎, 緒方勤, 深見真紀. 15 番染色体母性片親性ダイソミーを伴う tetrasomy 15q 症例の分子遺伝学的解析. 第 56 回人類遺伝学会, 東京, 2012.10.25-27
 14. 松原圭子, 村上信行, 福家智子, 鏡雅代, 永井敏郎, 深見真紀, 緒方勤. MAR および MAR 関連因子は PWS の発症リスクとなるか? 第 17 回生殖内分泌学会, 東京, 2012.12.8
 15. 鈴木江莉奈, 五十嵐麻希, 宮戸真美, Dung Chi Vu, 緒方勤, 深見真紀. 46, XY 性分化疾患患者における 2 番染色体長腕部分欠失の同定. 第 46 回日本小児内分泌学会学術集会, 大阪, 2012.09.29
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
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）
分担研究報告書

2. 実用新案登録

なし

3. その他

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
有阪 治	環境の発育への影響	遠藤文夫	小児科診断・治療指針	中山書店	東京	2012	1107-10
有阪 治	思春期早発症	山口徹、北原光夫、他					

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Inoue H, Mukai T, Sakamoto Y, <u>Ogata T</u> , et al.	Identification of a novel mutation in the exon 2 splice donor site of the POU1F1/PIT-1 gene in Japanese identical twins with mild combined pituitary hormone deficiency.	<i>Clin Endocrinol</i>	76 (1)	78-87	2012
Sugihara S*, <u>Ogata T</u> , Kawamura T, Urakami T, et al.	Genetic characteristics on HLA-class II and class I among Japanese type 1A and type 1B diabetic children and their families.	<i>Pediatr Diabetes</i>	13 (1)	33-44	2012
Kagami M, Kato F, Matsubara K, Sato T, Nishimura G, <u>Ogata T</u> *	Relative frequency of underlying genetic causes for the development of UPD(14)pat-like phenotype.	<i>Eur J Hum Genet</i>	20 (9)	928-932	2012
Oto Y*, Obata K, Matsubara K, <u>Ogata T</u> , et al.	Growth hormone secretion and its effect on height in pediatric patients with different genotypes of Prader-Willi syndrome.	<i>Am J Med Genet A</i>	158A (6)	1477-1480	2012
Fuke-Sato T, Yamazawa K, Nakabayashi K, <u>Ogata T</u> * et al.	Mosaic upd(7)mat in a patient with Silver-Russell syndrome: correlation between phenotype and mosaic ratio in the body and the placenta.	<i>Am J Med Genet A</i>	158A (2)	465-468	2012
Stoppa-Vaucher S, Ayabe T, Paquette J, <u>Ogata T</u> , et al.	46, XY gonadal dysgenesis: new SRY point mutation in two siblings with paternal germ line mosaicism.	<i>Clin Genet</i>	82 (6)	505-513	2012
Abe Y, Aoki Y*, Kuriyama S, <u>Ogata T</u> , et al.	Prevalence and clinical features of Costello syndrome and cardio-facio-cutaneous syndrome in Japan: Findings from a nationwide epidemiological survey.	<i>Am J Med Genet A</i>	158A (5)	1083-1094	2012

Koyama Y*, Homma K, Fukami M, <u>Ogata T</u> , et al.	Two-step biochemical differential diagnosis of classical 21-hydroxylase deficiency and cytochrome P450 oxidoreductase deficiency in Japanese infants using uUrinary Pregnanetriolone / Tetrahydrocortisone Ratio and 11 β -hydroxyandrosterone by Gas chromatography - mass spectrometry.	<i>Clin Chem</i>	58 (4)	741–747	2012
Sekii K*, Itoh H, <u>Ogata T</u> , et al.	Deterioration of myocardial tissue Doppler indices in a case of fetal hydrothorax as a promising indication for clinical intervention before the development of nonimmune hydrops fetalis.	<i>Arch Gynecol Obstet</i>	286 (4)	1079–1080	2012
Kalfa N, Fukami M, Philibert P, <u>Ogata T</u> , et al.	Screening of <i>MAMLD1</i> mutations in 70 Children with 46,XY DSD: Identification and functional analysis of two new mutations.	<i>PLoS One</i>	7 (3)	e32505	2012
Qin X-Y, Miyado M, Kojima Y, <u>Ogata T</u> , et al	Identification of novel low-dose bisphenol a targets in human foreskin fibroblast cells derived from hypospadias patients.	<i>PLoS ONE</i>	7 (5)	e36711	2012
Sekii K*, Ishikawa T, <u>Ogata T</u> , Itoh H, Iwashima S.	Fetal myocardial tissue Doppler indices before birth physiologically change in proportion to body size adjusted for gestational age in low-risk term pregnancies.	<i>Early Hum Dev</i>	88 (7)	517–523	2012
Fukami M*, Tsuchiya T, Takada S, <u>Ogata T</u> , et al.	Complex genomic rearrangements in the <i>SOX9</i> 5' region in a patient with Pierre Robin sequence and hypoplastic left scapula.	<i>Am J Med Genet A</i>	158A (7)	1529–1534	2012
<u>Ogata T</u> *, Fukami M, Yoshida R, Nagata E, Fujisawa Y, Yoshida A, Yoshimura Y	Haplotype analysis of <i>ESR2</i> in Japanese patients with spermatogenic failure.	<i>J Hum Genet</i>	57 (7)	449–452	2012
Qin X-Y, Kojima Y, <u>Ogata T</u> , et al.	Association of variants in genes involved in environmental chemical metabolism and risk of cryptorchidism and hypospadias	<i>J Hum Genet</i>	57 (7)	434–441	2012
Hiura H, Okae H, Miyauchi N, <u>Ogata T</u> , et al.	Characterization of DNA methylation errors in patients with imprinting disorders conceived by assisted reproduction technologies.	<i>Hum Reprod</i>	27 (8)	2541–2548	2012
Nagasaki K, Iida T, <u>Ogata T</u> , et al.	<i>PRKARIA</i> mutation affecting cAMP-mediated G-protein-coupled receptor signaling in a patient with acrodysostosis and hormone resistance.	<i>J Clin Endocrinol Metab</i>	97 (9)	E1808–1813	2012
Kagami M, Matsuoka K, Nagai T, <u>Ogata T</u> , et al.	Paternal uniparental disomy 14 and related disorders: placental gene expression analyses and histological examinations.	<i>Epigenetics</i>	7 (10)	1142–1150	2012
Moritani M, Yokota I, Tsubouchi K, <u>Ogata T</u> , et al.	Identification of <i>INS</i> and <i>KCNJ11</i> gene mutations in type 1B diabetes in Japanese children with onset of diabetes before 5 yr of age.	<i>Pediatr Diabetes</i>	2012 Sep 10. doi: 10.1111/j.1399-5448.2012.00917.x.	10.1111/j.1399-5448.2012.00917.x.	[Epub ahead of print]
Suzuki-Suwanai A, Ishii T, Haruna H, <u>Ogata T</u> , et al.	A report of two novel <i>NR5A1</i> mutation families: possible clinical phenotype of psychiatric symptoms of anxiety and/or depression.	<i>Clin Endocrinol</i>		(accepted)	

Miyado M, Nakamura M, Miyado K, <u>Ogata T*</u> , et al.	<i>Mamld1</i> deficiency significantly reduces mRNA expression levels of multiple genes expressed in mouse fetal Leydig cells but permits normal genital and reproductive development.	<i>Endocrinology</i>		(accepted)	
Sekii K*, Itoh H, <u>Ogata T</u> , Iwashima S*	Possible contribution of fetal size and gestational age to myocardial tissue Doppler velocities in preterm fetuses.	<i>Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol</i>		(accepted)	
Nagasaki K*, Tsuchuya S, Saitoh A, <u>Ogata T</u> , Fukami M.	Neuromuscular symptoms in a patient with familial pseudohypoparathyroidism type 1b diagnosed by methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification.	<i>Endocr J</i>		(accepted)	
Ohishi A*, Ueno D, Matsuoka, H, Kawamoto, F <u>Ogata T</u>	Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and adrenal hemorrhage in a Filipino neonate with hyperbilirubinemia.	<i>Am J Perinatol Reports</i>		(in press)	
Fuke T, Mizuno S, Nagai T, Hasegawa T, <u>Ogata T*</u> et al.	Molecular and clinical studies in 138 Japanese patients with Silver-Russell syndrome.	<i>PLoS ONE</i>		(accepted)	
Ayabe T, Matsubara K, <u>Ogata T</u> , Ayabe A, Murakami N, Nagai T, Fukami M*	Birth seasonality in Prader-Willi syndrome resulting from chromosome 15 microdeletion.	<i>Am J Med Genet A</i>		(accepted)	
Fukami M*, Shozu M, <u>Ogata T</u>	Molecular bases and phenotypic determinants of aromatase excess syndrome.	<i>Int J Endocrinol</i>	2012	584807	2012
<u>Ogata T*</u> , Sano S, Nagata E, kato F, Fumaki M	<i>MAMLD1</i> and 46,XY disorders of sex development.	<i>Semi Reprod Med</i>	30 (5)	410-416	2012
Fukami M, Homma K, Hasegawa T, <u>Ogata T*</u>	Backdoor pathway for dihydrotestosterone biosynthesis: implications for normal and abnormal human sex development.	<i>Dev Dyn</i>	2012 Oct 16.	10.1002/dvdy.23892	[Epub ahead of print]
島田由紀子, 堀川玲子, 有阪治	胎生期性ホルモンの空間認知能への影響を粘土の造形表現からみた検討	ホルモンと臨床 58 特集小児内分泌学の進歩 2010	58	1107-1110	2012
田中敏章, 内木康博, 堀川玲子	ターナー症候群におけるエストラジオール貼付剤によるエストロゲン少量療法から開始した二次性徴の成熟と成人身長への効果	日本成長学会雑誌 Vol.8	Vol.8(1)	21-28	2012
西垣五月, 水野裕介, 脇和之, 野田雅裕, 内木康博, 田中敏章, 田苗綾子, 堀川玲子	21水酸化酵素欠損症キャリアーオーバー女性の妊娠・出産の経験	ホルモンと臨床 特集小児内分泌学の進歩2011		275-279	2012
堀川玲子	先天性副腎皮質過形成症の出生前診断と胎児治療	小児内科	44(4)	593-600	2012
堀川玲子	性腺 性分化疾患の臨床的アプローチ	日本内科学会雑誌	101(4)	965-974	2012

堀川玲子	思春期早発症	内分泌代謝専門 医ガイドブック (成瀬光栄・平田 結喜緒・島津章編 集) 診断と治療 社	2012.11	271-273	2012
Hagisawa S, Shimura N, Arisaka O.	Effect of excess estrogen on breast and genital development in growth hormone deficiency	<i>J Pediatr Adolesc Gynecol</i>	25	E61-e63	2012
島田由紀子, 堀川玲子, 有阪治	胎生期性ホルモンの空間認知能への影響を粘土の造形表現からみた検討.	ホルモンと臨床 58 特集小児内 分泌学の進歩 2010	58	1107-10	2012
Fumi Matsumoto, Kenji Shimada	Acquired cryptorchidism in a boy with disorder of sex development	<i>Clin Pediatr Endocrinol,</i>	21(1)	1-3	2012
松本富美、島田憲次	陰嚢水腫、精巣捻転、停留精巣	小児内科	44(増)	664-665	2012
Miyado M, Nakamura M, Miyado K, Morohashi K, Sano S, Nagata E, Fukami M, Ogata T.	Mam1d1 Deficiency Significantly Reduces mRNA Expression Levels of Multiple Genes Expressed in Mouse Fetal Leydig Cells but Permits Normal Genital and Reproductive Development.	<i>Endocrinology.</i>	153(12)	6033-40	2012
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.	<i>Endocrine J</i>	印刷中		
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.	<i>J Clin Endocrinol Metab</i>	97(9)	E1808-13	2012
Ogata T, Fukami M, Yoshida R, Nagata E, Fujisawa Y, Yoshida A, Yoshimura Y.	Haplotype analysis of ESR2 in Japanese patients with spermatogenic failure.	<i>J Hum Genet.</i>	57(7)	449-452	2012
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	<i>PLoS One</i>	7(5)	:e36711	2012
Qin XY, Sone H, Kojima Y, Mizuno K, Ueoka K, Muroya K, Miyado M, Hisada A, Zaha H, Fukuda T, Yoshinaga J, Yonemoto J, Kohri K, Hayashi Y, Fukami M, Ogata T	Individual variation of the genetic response to bisphenol a in human foreskin fibroblast cells derived from cryptorchidism and hypospadias patients.	<i>PLoS One</i>	7(12)	e52756	2012

Ayabe T, Matsubara K. Ogata T, Ayabe A, Murakami N, Nagai T, Fukami M	Birth Seasonality in Prader-Willi Syndrome Resulting from Chromosome 15 Microdeletion	<i>Am J Med Genet</i>	印刷中		
Fukami M	Commentary on Association of variants in genes involved in environmental chemical metabolism and risk of cryptorchidism and hypospadias	<i>J Hum Genet</i>	57	405-406,	2012
Ogata T, Sano S, Nagata E, Kato F, Fukami M	MAMLD1 and 46.XY Disorders of Sex Development.	<i>Semin Reprod Med</i>	30	410-416	2012
Fukami M, Homma K, Hasegawa T, Ogata T.	Backdoor pathway for Dihydrotestosterone Biosynthesis: Implications for normal and abnormal human sex development.	<i>Dev Dyn</i>	印刷中		2013

(作成上の留意事項)

1. 「研究成果の刊行に関する一覧表」に記入した書籍又は雑誌は、その刊行物又は別刷り一部を添付すること。
2. 研究報告書（当該報告書に含まれる文献等を含む。以下本留意事項において同じ。）は、国立国会図書館及び厚生労働省図書館並びに国立保健医療科学院ホームページにおいて公表されるものであること。研究者等は当該報告書を提出した時点で、公表について承諾したものとすること。
3. 日本工業規格A列4番の用紙を用いること。各項目の記入量に応じて、適宜、欄を引き伸ばして差し支えない。

IV. 研究成果の刊行物・別刷