

性分化・性成熟疾患群における診療ガイドラインの作成と普及  
研究代表者 緒方勤 浜松医科大学小児科 教授

本研究の目的は、小児慢性特定疾病対象とされた性分化・性成熟関連 29 疾患の診療ガイドライン作成と普及である。平成 27 年度は、全ての性分化疾患に共通する概要、診断基準、重症度分類の基本的考えをまとめ、これに基づき、指定難病候補となる 11 疾患（精巣形成不全、卵巣形成不全、卵精巣性性分化疾患、混合性性腺異形成症、5 $\alpha$ -還元酵素欠損症、17 $\beta$ -ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症、アンドロゲン不応症、アロマトーゼ過剰症、アロマトーゼ欠損症、ターナー症候群、マッキューン・オルブライト症候群）の概要、診断基準、重症度分類を作成した。また、遺伝的異質性に富む性分化疾患に正確かつ迅速な診断法を樹立する上で、遺伝子診断ならびに尿ステロイド解析の有用性を確認した。さらに、外科的治療法の検討、検体集積体制の整備を行った。

共同研究者

堀川玲子（国立成育医療研究センター）  
位田忍（大阪府立母子保健総合医療センター）  
長谷川奉延（慶応義塾大学）  
鹿島田健一（東京医科歯科大学）  
中井秀郎（自治医科大学）  
深見真紀（国立成育医療研究センター）

A. 研究目的

本研究の目的は、小児慢性特定疾病対象とされた性分化・性成熟関連 29 疾患の診療ガイドライン作成である。また、正確かつ迅速な診断法の樹立、難病に必要とされる管理・治療法のまとめと普及、件来・症例登録も重要な課題である。

B. 研究方法

性分化疾患の概要、診断基準、重症度分類：まず、全ての性分化疾患に共通する概要、診断基準、重症度分類の基本的考えをまとめた。次に、指定難病候補となる 11 疾患（精巣形成不全、卵巣形成不全、卵精巣性性分化疾患、混合性性腺異形成症、5 $\alpha$ -還元酵素欠損症、17 $\beta$ -ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症、アンドロゲン不応症、アロマトーゼ過剰症、アロマトーゼ欠損症、ターナー症候群、マッキューン・オルブライト症候群）の概要、診断基準、重症度分類を共同で作成した。尿ステロイドプロフィール解析の有用性：生下時体重 1,658-4,174g）、NC21OHD 9 例（在胎 37-40 週、生下時体重 2,704-3,408g）、PORD 16 例（在胎 34-41 週、生下時体重 1,018-3,418g）、採尿時の日齢は 0-180 日である。全例 CYP21A2 あるいは POR 遺伝子解析により診断を確定した。なお NC21OHD はマススクリーニング陽性症例のみである。尿中ステロイド代謝物をガスクロマトグラフ質量分析法を用いた尿ステロイドプ

ロフィルにより一斉分析した

遺伝子診断法の検討：われわれの先行研究で得られたデータおよび文献的考察を行い、性分化・性成熟疾患群に対する効率的遺伝子診断システムを構築した。さらに、日本人患者の解析結果を集積し、結果の再現性の確認、精度の向上、解析手技簡略化、解析コスト削減などについて検討した。本研究は、日本医療研究開発機構「難治性疾患実用化研究事業「性分化・性成熟領域 38 疾患の診療ガイドライン作成に向けた遺伝子診断法の確立」研究班（代表研究者：深見真紀、分担研究者：緒方勤）および「小児科・産科領域疾患の大規模遺伝子解析ネットワークとエピゲノム解析拠点整備」研究班（代表研究者：松原洋一、分担研究者：深見真紀・緒方勤）と連携して行った。次に、上記によって構築した解析システムを用いて、合計 147 件の臨床検体の遺伝子診断を行った。本年度は主として、既知疾患責任遺伝子を搭載した次世代シーケンサー疾患遺伝子パネルを用いた網羅的変異スクリーニングおよび multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) およびアレイ comparative genomic hybridization (CGH) を用いたゲノムコピー数解析と染色体微細構造解析を行った。治療法の検討：Yoke 法を用いた一次的尿道下裂形成術の連続した自験 6 例を、平成 27 年 4 月を境に、術後尿道留置カテーテルを用いて管理した A 群（平成 27 年 3 月以前）と膀胱瘻カテーテルを用いて管理した B 群（同年 4 月以後）に分け、それぞれの手術成績を検討した。手術方法、合併症、長期予後については、保護者のインフォームドコンセントを十分得た上で、術後経過の説明、合併症への対応と見通しについて、倫理面に配慮した説明を行った。症例情報登録および検体保存：研究開発法人国立成育医療研究センターに構築済みの成育希少

疾患症例登録システムを活用し、性分化・性成熟疾患患者の臨床情報と遺伝学的データの登録を行った。さらに6ナショナルセンターバイオバンク事業と連携し、サンプルのバンキングを開始した。

#### (倫理面への配慮)

尿ステロイドプロファイル解析は、慶應義塾大学医学部および慶應義塾大学病院 IRB の承認のもとに行った。またヘルシンキ宣言、ヒトを対象とする医学系研究に関する倫理指針、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に準拠した。遺伝子診断研究は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成25年 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)を遵守して施行した。本研究課題に関して、国立成育医療研究センター倫理委員会において、下記の課題が承認されている。

すべての検体は、本人もしくは両親のインフォームドコンセントを得たのち集積された。

- 性分化疾患・性成熟疾患における遺伝的原因の探索(浜松医科大学第23-110号、平成23年12月12日;国立成育医療研究センター受付番号512、平成23年12月1日)
- 先天性奇形症候群における遺伝的原因の探索(浜松医科大学第23-112号、平成23年12月12日;国立成育医療研究センター受付番号518、平成23年12月1日)
- 卵巣機能不全の分子基盤の探索(国立成育医療研究センター課題番号646)

#### C. 研究結果

性分化疾患の概要、診断基準、重症度分類:全ての性分化疾患に共通する概要、診断基準、重症度分類の基本的考えをまとめ、これに基づき、指定難病候補となる11疾患(精巣形成不全、卵巣形成不全、卵精巢性性分化疾患、混合性性腺異形成症、5 $\alpha$ -還元酵素欠損症、17 $\beta$ -ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症、アンドロゲン不応症、アロマターゼ過剰症、アロマターゼ欠損症、ターナー症候群、マッキューン・オルブライト症候群)の概要、診断基準、重症度分類を作成した。そして、この内容を、日本小児内分泌学会の承認を得た後、日本内分泌学会の基本的承認のもと、厚生労働省が推進する「小児慢性特定疾病と指定難病制度」との参考資料として提出した。

尿ステロイドプロファイル解析の有用性:

11 $\beta$ -hydroxyandrostenedione の尿中代謝物

11 $\beta$ -hydroxyandrosterone (11OHAn)と

pregnenolone の尿中代謝物 pregnenediol (PD5)の

比(11OHAn/PD5)を用いることで、cutoff 1.0 により21水酸化酵素欠損症(古典型および非古典型)とP450酸化還元酵素欠損症を感度特異度100%で鑑別できることを見いだした。

遺伝子診断法の検討:本研究期間では、147検体

の遺伝子診断を行った。第1に、性分化疾患と性成熟疾患の全疾患責任遺伝子を搭載した時差大シーケンサー遺伝子パネルを作成し、変異スクリーニングを行った。これらの疾患患者における既知遺伝子変異陽性者の割合および変異パターンを明らかとした。本年度における代表的成果として、NR5A1遺伝子およびSOX10遺伝子変異陽性患者の新たな臨床像の同定、性分化疾患を招く新規MAMLD1スプライス変異の同定と機能解析が挙げられる。とくに重要な点として、SOX9遺伝子内機能低下変異が骨変形を伴わない46,XY性分化疾患の原因となることを初めて明らかとした。第2に、MLPAおよびアレイCGHを用いてゲノムコピー数解析を行った。これによって、性分化疾患もしくは性成熟疾患を招く染色体微細構造異常を同定した。特記すべき成果として、性成熟異常と副腎機能不全を呈する男児における新規染色体複雑構造異常の同定、生殖機能障害に関与する新規性染色体微細重複の同定、46,XY性腺形成不全を招くSOX9上流微細欠失の同定などが挙げられる。また、従来46,XX性分化疾患の原因として知られているSOX3重複が、単独では疾患発症原因とはならないことを明確とした。

治療法の検討:A群3例、手術時年齢(1歳、2歳2ヶ月、2歳2ヶ月)、形成尿道長(35,48,48mm)、手術時間(3hr57min,4hr17min,3hr44min)、入院期間(16,19,17days)で、3例ともに術後合併症を認めた。(遠位形成尿道離開3例、瘻孔1例)B群3例、手術時年齢(1歳2ヶ月、2歳6ヶ月、3歳8ヶ月)、形成尿道長(50,45,55mm)、手術時間(3hr6min,3hr42min,4hr20min)、入院期間(16,16,18days)で、3例ともに術後合併症を認めなかった。

症例情報登録および検体保存:本研究期間では、国内外の医療機関から303の臨床検体を集積し、バンキングした。これには、末梢血、ゲノムDNAのほか、尿道下裂患者の包皮などが含まれる。さらに、患者の臨床情報と遺伝子解析結果をデータベースに登録した。多数の患者の情報が得られた疾患に関する情報は、ホームページ上に公開した。

#### D. 考察

性分化疾患の概要、診断基準、重症度分類:この基本的考えの提唱は、今回作成した11疾患の概要、診断基準、重症度分類に使用されており、「小児慢性特定疾病と指定難病制度」の推進に大きく貢献すると期待される。また、11疾患(精巣形成不全、卵巣形成不全、卵精巢性性分化疾患、混合性性腺異形成症、5 $\alpha$ -還元酵素欠損症、17 $\beta$ -ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症、アン

ドロゲン不応症、アロマターゼ過剰症、アロマターゼ欠損症、ターナー症候群、マッキューン・オルブライト症候群)の概要、診断基準、重症度分類の作成は、厚生労働省が推進する小児慢性特定疾病ならびに指定難病事業に大きく貢献すると期待される。

尿ステロイドプロフィール解析の有用性：マスキューニング陽性のNCを含む21OHDとPORDを生化学的に鑑別診断可能であった。PORDでのみ障害されるCYP17の基質と生成物の尿中代謝物比である11OHA<sub>n</sub>/PD5は、11OHA<sub>n</sub>単独よりもCYP17活性障害を鋭敏に反映したと考える。

遺伝子診断法の検討：本研究で確立した遺伝子診断システムを用いて、多数の患者の診断を行った。本研究によって、日本人患者における既知遺伝子変異変異パターンが明らかとなった。例えば、出生時に外性器異常を伴う46,XY患者においては、高頻度にAR、NR5A1、もしくはSRD5A2遺伝子機能低下変異が同定されることが見出された。出生時の外性器異常は、社会的緊急性を有する状態である。今後、本年度の成果をもとに、multiplex PCRを用いた迅速スクリーニングなどより再現性が高く簡便な手法の確立を目指す。また、コストの削減について検討する。さらに、本研究で明らかとなった個々の遺伝子異常症の臨床スペクトラムに関する情報発信を行う。同時に、臨床遺伝子診断の倫理基盤、経済的基盤の整備を行い、継続的に遺伝子診断技術を提供するための体制を構築する。

治療法の検討：形成尿道が長い高度尿道下裂の形成術の術後管理では、十分に尿道縫合部が治癒するまでの期間、尿道カテーテル留置が必須であるが、形成尿道に異物(カテーテル)が接していることにより創汚染の機会が増加する。術後早期から通常2週間にわたり、形成尿道に異物が接触することを回避し、異物フリーな状態に置くことは、縫合部の創傷治癒能力を高め、特に高度の尿道下裂形成術の成功率を高めると考えられる。膀胱瘻カテーテルによる2週間程度の術後尿ドレナージは、経皮的留置操作の手間が増えるものの、非常に有用であることが示唆された。

症例情報登録および検体保存：本研究では、性分化疾患と性成熟疾患の臨床検体と情報の集積を行った。これらは希少疾患であるため、個々の医療機関で把握されている患者は少数にとどまる。全国レベルでの症例登録を行い、追跡調査をすることによって、より良いガイドラインの策定が可能となる。また、バンキングされた検体は、将来の我が国における性分化疾患と性成熟疾患研究に活用可能である。

## E. 結論

全ての性分化疾患に共通する概要、診断基準、重症度分類の基本的考えをまとめ、これに基づき、指定難病候補となる11疾患(精巣形成不全、卵巣形成不全、卵精巣性分化疾患、混合性性腺異形成症、5 $\alpha$ -還元酵素欠損症、17 $\beta$ -ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症、アンドロゲン不応症、アロマターゼ過剰症、アロマターゼ欠損症、ターナー症候群、マッキューン・オルブライト症候群)の概要、診断基準、重症度分類を作成した。また、遺伝的異質性に富む性分化疾患に正確かつ迅速な診断法を樹立する上で、遺伝子診断ならびに尿ステロイド解析の有用性を確認した。さらに、外科的治療法の検討、検体集積体制の整備を行った。これらの成果は、本研究の目的達成に大きく貢献すると期待される。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## G. 研究発表

学術雑誌等での発表  
添付資料参照