

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

小児慢性特定疾病対象とされた性分化・性成熟関連疾患の研究班の診療ガイドライン作成と普及を目的として、ターナー症候群、マッキューン・オルブライト症候群、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、17β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症、5α-還元酵素欠損症、アンドロゲン不応症、アロマターゼ過剰症（エストロゲン過剰症）、アロマターゼ欠損症（アンドロゲン過剰症）、46,XX 精巣性性分化疾患の診断基準および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（慶應義塾大学）
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、ターナー症候群、マッキューン・オルブライト症候群、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、17β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症、5α-還元酵素欠損症、アンドロゲン不応症、アロマターゼ過剰症（エストロゲン過剰症）、アロマターゼ欠損症（アンドロゲン過剰症）、46,XX 精巣性性分化疾患の概要、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ァイル解析の有用性

性：遺伝子解析により確定された17α水酸化酵素欠損症7例、P450酸化還元酵素欠損症34例から尿を採取し、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ァイルにより尿中ステロイド代謝物を一斉解析を開始した。

遺伝子診断法の検討：初年度に構築した効率的遺伝子診断システムを活用し、次世代シーケンサーを用いたアンプリコンシーケンスとターゲットエンリッチメント、MLPA、アレイCGHなどを用いた疾患関連遺伝子解析を行い、500例以上の遺伝子診断を終了した。さらに、日本人患者の解析データを集積し、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。

外科的治療法の検討：乳児期に膣形成術を受けた女児のうち、思春期年齢に達した症例の現状を検討した。

症例情報登録および検体保存：国立成育医療研究センター分子内分泌研究部に構築済みの成育希少疾患症例レジストリシステムを活用し、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、臨床サンプルのバンキングを行った。

（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

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、ターナー症候群、マッキューン・オルブライト症候群、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、17β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症、5α-還元酵素欠損症、アンドロゲン不応症、アロマターゼ過剰症（エストロゲン過剰症）、アロマターゼ欠損症（アンドロゲン過剰症）、46,XX 精巣性性分化疾患の概要、診断基準、重症度分類を共同で作成した。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ィール解析の有用性**：尿ステロイドプロフィールによる検討を加える研究対象 41 例を設定した。今後、上記 41 例を対象に尿ステロイドプロフィール分析を行う。過去の報告を参考に、以下に注目する予定である。

- ・ 4 種のコルチコステロン代謝物
 - 5α-tetrahydrocorticosterone
 - 5β-tetrahydrocorticosterone
 - 5α-tetrahydro11-dehydrocorticosterone
 - 5β-tetrahydro11-dehydrocorticosterone
- ・ 4 種のコルチゾール代謝物
 - 5α-tetrahydrocortisol
 - 5β-tetrahydrocortisol
 - 5α-tetrahydrocortisone
 - 5β-tetrahydrocortisone
- ・ 21-deoxycortisone 代謝物
 - Pregnanetriolone

遺伝子診断法の検討：(1) 遺伝子診断 46,XY 性分化疾患患者では AR, NR5A1, SRD5A2 変異および SOX9 上流欠失、性成熟疾患患者では FGFR1, KAL1, CHD7 変異を含む多くの疾患関連遺伝子異常を同定した。変異同定率は中枢性思春期遅発症で約 25%、中枢性性早熟症で約 20%、非症候性尿道下裂症で約 10%であった。また、日本で初めて思春期早発症患者で MKRN3 機能喪失変異を同定し、本症の症状の改善に GnRH アナログ投与が有効であることを明らかとした。個々の患者の遺伝子解析結果は主治医に報告し、患者の治療指針決定や遺伝カウンセリングに利用した。また、日本人患者の変異パターンや遺伝子型-表現型関連について検討し、データベースに登録した。

(2) 新規発症機序の解明

既知遺伝子変異陰性患者を対象として、エクソーム解析や全ゲノムシーケンシス解析を含む網羅的遺伝子解析を行った。その結果、性分化疾患の新たな発症機序を解明した。特に重要な成果として、性分化疾患を含む先天奇形症候群患者において SAMD9 変異を同定し、「MIRAGE 症候群」という新たな疾患概念を確立した。また、46,XX 精巣性/卵精巣性性分化疾患患者において NR5A1 ミスセンス変異を同定し、NR5A1 遺伝子機能異常が未分化 46,XX 性腺の精巣化を生じることを初めてあきらかとした。また、NR0B1 機能喪失変異が副腎機能不全を伴わない性早熟を招くことを見出した。

(3) 臨床遺伝子診断システムの開発と試験運用

かずさDNA 研究所と連携し、multiplex PCR 法を利用した効率的既知疾患責任遺伝子変異スクリーニングシステムを開発した。これまでに集積した日本人患者の変異情報をもとに解析すべき遺伝子を選択し、次世代シーケンサーパネルを作成した。本研究期間に構築したパネルの対象疾患は、46,XY 性分化疾患および性成熟疾患である。試験的にすでに変異が同定された患者のサンプルを解析し、すべての変異がこのパネルで同定されることを確認した。このパネルを用いた場合、従来のサンガー法に比べてコストは 1/2 から 1/3 程度、必要 DNA 量は

1/5 以下、解析時間は 1/10 以下である。変異同定率は従来法と同等かやや高いと推測される。

外科的治療法の検討：期間内に当科を受診した DSD 女性症例は 30 例で、8 例が対象となった。原疾患は先天性副腎皮質過形成（以下 CAH）4 例、完全型アンドロゲン不応症（以下 CAIS）2 例、部分型アンドロゲン不応症（以下 PAIS）・ターナー症候群が 1 例ずつであった。CAH 症例中 3 例で外陰膣形成術の既往があった。このうち 1 例で膣口拡大術を 15 歳時に施行した。別の 1 例で 16 歳時に大陰唇再形成術を施行、この症例と他の 1 例に膣自己拡張を 18 歳、20 歳で指導した。手術歴のない CAH の 1 例と PAIS 症例に 11 歳、12 歳で陰核形成術を施行した。CAIS の 2 例、PAIS・ターナー症候群の各例に、28 歳・20 歳、12 歳、17 歳で性腺摘除術を施行した。CAIS 症例では家族の同意獲得困難のため、婦人科初診から性腺摘除術施行まで 5 年以上を要した。

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多数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。

D. 考察

性分化疾患の概要、診断基準、重症度分類

類：この基本的考えの提唱は、今回作成した疾患の概要、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、ターナー症候群、マッキューン・オルブライト症候群、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、 17β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症、 5α -還元酵素欠損症、アンドロゲン不応症、アロマターゼ過剰症（エストロゲン過剰症）、アロマターゼ欠損症（アンドロゲン過剰症）、46,XX 精巣性性分化疾患の概要、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ァイル解析の有用

性： 17α 水酸化酵素欠損症と P450 酸化還元酵素欠損症をもっとも感度・特異度高く鑑別可能な指標が決定されると期待される。

遺伝子診断法の検討：性分化・性成熟疾患は、遺伝的異質性を有する病態である。これらの疾患の診療では、個々の患者の発症機序に基づいた治療法の選択が必須である。本研究では、網羅的遺伝子解析を行い、日本人患者における既知遺伝子変異の頻度を明らかとした。本研究で、既知遺伝子異常の新規表現型スペクトラムが解明され、さらに新たな疾患責任遺伝子変異が同定された。また、継続して遺伝子解析技術を提供するため、基盤整備を行った。また、継続的遺伝子診断技術の提供を目指して、公益法人かずさ DNA 研究所と NPO 法人オーファン ネットジャパンと連携し、次世代パネルを用いた性分化・性成熟疾患の迅速診断システムを開発し、パイロットスタディを開始したことを付記する。

外科的治療法の検討：思春期以後に性分化疾患の女性患者が必要とする医療は、追加外陰部手術・在宅指導・性腺摘除術など様々である。思春期もしくは若年成人女性という未成熟なことが多い対象なので、全人医療的な細やかな対応が必要である。

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、ターナー症候群、マッキューン・オルブライト症候群、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、 17β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症、 5α -還元酵素欠損症、アンドロゲン不応症、アロマターゼ過剰症（エストロゲン過剰症）、アロマターゼ欠損症（アンドロゲン過剰症）、46,XX 精巣性性分化疾

患の概要、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