

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：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

2. 研究開発代表者： 深見真紀 国立研究開発法人国立成育医療研究センター 分子内分泌研究部

3. 研究開発の成果

本研究の目的は、性分化・性成熟疾患の遺伝子診断法を確立し、難治性疾患等政策研究事業「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」班（研究代表者：緒方勤）における診療ガイドライン作成の基盤となるエビデンスを構築することである。さらに、新規疾患発症機序の解明および継続的遺伝子診断技術提供の体制整備を行う。この目標に向けて、本研究班の分担研究者の所属施設および国内の他の医療機関から集積された多数の性分化・性成熟疾患患者の網羅的遺伝子解析を行い、日本人患者の遺伝学的基盤を明確とする。

平成 27 年度において、研究班全体として約 500 の性分化・性成熟疾患患者の臨床サンプルを集積した。検体集積は、日本小児内分泌学会、日本小児泌尿器科学会などの関連学会および患者会と連携して行った。本年度集積された検体には、46,XY 性分化疾患、思春期遅発症（ゴナドトロピン欠損症）、中枢性思春期早発症、および、卵巣機能不全を主徴とする 46,XX 性分化疾患が含まれる。さらに、約 550 例（先行研究および初年度に集積した検体を含む）の検体を対象に、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、multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA)、アレイ comparative genomic hybridization (CGH) などを用いた網羅的遺伝子解析/ゲノム解析を行った。その結果、日本人患者の変異パターンと既知遺伝子変異の臨床スペクトラムが明確となった。特記すべき成果として、46,XX 核型を有する遺伝的女性において精巣形成を招く新規遺伝子異常を発見し、その機能解析を開始した。また、ゴナドトロピン分泌過剰に起因する思春期早発症を招く新規 G タンパク共役型受容体機能亢進変異を同定した。個々の患者の変異および臨床情報は、データベース上に登録した。また、日本人患者の変異情報をもとに、multiplex PCR 法による迅速遺伝子診断システムの開発に着手した。さらに、主治医を介して患者に遺伝子診断結果をフィードバックした。サンプルは、成育医療研究センターが推進する 6 ナショナルセンターバイオバンク事業と連携して管理した。

モデル動物解析では、遺伝子改変技術を用いてヒト性分化疾患の責任遺伝子として同定された遺伝子の破壊や精巣と卵巣を構成する細胞の機能を破壊したマウスを作成した。このマウスを用いて、胎児精巣におけるステロイド産生を行うライディッヒ細胞の遺伝子発現制御機構を解明した。とくに重要な点として、性分化のマスター遺伝子 NR5A1 (SF1/Ad4BP) が、ライディッヒ細胞内代謝制御を介して精巣形成とステロイド産生に寄与することが明確となった。

以上の研究成果を、シンポジウム、ホームページ、論文などで発表した。