

学位論文題名

性分化異常症例における表現型／遺伝子型相関と  
Xモノソミー・モザイシズムとの関連について

学位論文内容の要旨

はじめに

ヒトの遺伝的性は、受精時に父親から引き継ぐ性染色体がY染色体あるいはX染色体かによって男女いずれかに決定される。その後の性分化において、未分化性腺はY染色体の有無により精巣あるいは卵巣へと分化（一次的性分化）し、分化した性腺から産生される性ホルモンなどにより内・外性器の表現型に性差が現れる（二次的性分化）。性分化異常症は、これらの過程に生じた何らかの障害によって惹き起こされる。本研究では、産婦人科領域における性分化異常症例について表現型と遺伝子型の相関を細胞遺伝学的・分子遺伝学的に検討し、性分化異常症発症の遺伝学的機構を部分的にも解明することを目的とした。

対象と方法

対象は、臨床所見および細胞遺伝学的所見から性分化異常症が疑われた表現型女性 11 例（在胎 16 週～55 歳）、表現型男性 7 例（在胎 15 週～49 歳）の 18 症例である。本人あるいは家族の同意を得た後、末梢血リンパ球、皮膚、性腺、卵管、口腔粘膜、骨髄、羊水細胞、臍帯血、胎盤を検体として分析に用いた。各種分染法を用いた染色体分析により、染色体核型を明らかにするとともに、染色体の構造異常およびモザイシズムの有無を検索した。また、Y染色体上の 27 遺伝子座位についてサザンプロット法、PCR 法を用いて欠失の有無を解析し、Y染色体の deletion map を作成した。精巣決定遺伝子と判明している SRY については PCR-SSCP 法ならびにシーケンス法を用いて塩基配列の変異の有無を検索した。構造異常染色体およびマーカー染色体について、FISH 法によりその構造および由来の同定を試みた。精巣性女性化症候群が疑われた症例では、アンドロゲン受容体解析を行った。

成績

染色体分析では、表現型女性、表現型男性に共通して、染色体構造異常（由来不明のマーカー染色体を含む）が半数以上の症例に認められ、これら構造異常染色体を有する症例では 45,X 核型を含むモザイシズム（Xモノソミー・モザイシズム）が高頻度に認められた。表現型女性ではモザイシズムを有する症例が多く、なかでもXモノソミー・モザイシズムの頻度は表現型男性に比べ高かった。一卵性双胎で表現型の男女が異なる症例において、組織別染色体分析により、構成する 3 核型の比率が血液では両者でほぼ同一であるものの、口腔粘膜、性腺においては差異が認められ、特に性腺においてXモノソミーの構成比率が男性表現型の児よりも女性表現型の児において高いことが明らかとなった。

Y染色体遺伝子解析では、表現型女性、表現型男性ともにY染色体 27 遺伝子座位について、全保有、部分欠失、全欠失の 3 群に分類された。SRY の存在は全保有の症例および部分欠失を有する症例の全てにおいて確認された。SRY を有する症例は表現型女性で 54.5% (6/11)、表現型男性では 85.7% (6/7) であり、表現型女性においても SRY を有している症例が存在することが示された。PCR-SSCP 法ならびにシーケンス法では、SRY の塩基配列

に異常は認められなかった。

染色体分染法およびY染色体遺伝子解析と FISH 法との併用により、構造異常染色体およびマーカー染色体の構造解析ならびに由来の同定が可能であった。

アンドロゲン受容体解析を行った2例では、ともに結合能は認められなかった。

### 考 察

*SRY* と表現型との関連の検討で、女性表現型を示す症例においても *SRY* を有する症例が認められ、*SRY* を有しても男性表現型を呈するとは限らず、性分化異常症例においては *SRY* の存在のみでは表現型を説明することは困難であることが明らかとなった。*SRY* を有しながら女性表現型を呈する症例(6例)の中には、アンドロゲン不応症や二卵性双胎における血液キメリズムのように性腺形成後の二次的な内分泌機構によって外性器表現型が説明される症例もみられたが、その他の4症例ではXモノソミー・モザイシズムを有することが判明した。特に、表現型の男女が異なる一卵性双胎症例の組織別染色体分析においてXモノソミーの構成量の差異が両症例間での性腺分化の違い(混合性性腺異形成と精巣)に関連することが推測されたことから、Xモノソミー・モザイシズム症例で認められるXモノソミーの表現型への影響は、一次的な性腺分化への関与であり、それはXモノソミー細胞の遺伝子量に依存すると考えられた。

*SRY* 陽性のXモノソミー・モザイシズム症例の性腺は、精巣、索状性腺(精巣由来)、および卵巣の形態を呈した。*SRY* は switch gene と考えられており、*SRY* の存在(onかoffか)が自立的に精巣分化を決定するとした場合、性腺分化は精巣か卵巣に限られ、このような性腺の組織学的な多様性は認められないはずである。卵精巣(ovotestis)を有するXX真性半陰陽症例の検討から、*SRY* よりも下流の精巣形成遺伝子の発現抑制と性腺の多様性の関係、さらに、Xモノソミー細胞での精巣形成遺伝子に対する抑制機構が想定された。したがって、*SRY* 陽性のXモノソミー・モザイシズム症例の初期発生では、性腺原基内において、*SRY* を有する細胞では精巣形成遺伝子が活性化されるが、同時にXモノソミー細胞では精巣形成遺伝子の発現抑制が生じており、混在する両細胞の構成比率によって精巣形成遺伝子が活性化され、精巣形成遺伝子の活性度に応じて精巣から卵巣までの多様な性腺分化を示すと考えられた。

*SRY* 陰性のXモノソミー・モザイシズム症例において、X染色体短腕をhaploidとして有する2症例の比較から、これらの症例の性腺は、一旦は卵巣として形成されるものの、思春期以降に索状性腺(性腺形成不全)に至ることが示された。また、Xモノソミー・モザイシズムを有さずXq22-qterの領域をhaploidで有する症例でも性腺形成不全が認められた。X染色体上には正常な卵巣の形成、機能維持にとって必要なcritical regionが想定されているが、これらの症例ではdiploidとして存在しなければならないcritical region内の遺伝子の量的不足により卵巣形成・維持機構が障害され性腺形成不全に至ったものと考えられた。一方、critical region外のXp22.3に存在する*KAL* 遺伝子をhaploidで有する症例においては性腺機能に影響は認められなかった。すなわち、*SRY* 陰性のXモノソミー・モザイシズム症例では、混在するXモノソミー細胞において卵巣の形成・維持に必要なX染色体上のcritical regionが全てhaploidで不足する(haploinsufficiency)ため、性腺の卵巣への分化は生じるものの、その後の過程に必須である卵巣形成・機能維持機構が十分には発現されず、性腺全体として性腺形成不全(索状性腺)に至ると考えられた。

### 結 論

Xモノソミー・モザイシズムを有する性分化異常症例における表現型の発現には、性腺分化決定(初期化)と性腺分化後における性腺形成・機能維持過程の両方において、Xモノソミー細胞に内在する特異な生物学的性質が関与していることが示された。このXモノソミー細胞の作用は、近接する*SRY* 陽性細胞ばかりではなく*SRY* 陰性細胞にも同様に及ぶと考えられ、Xモノソミー細胞の存在そのものが性分化異常症の新たな一つの成因と推察される。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 長 嶋 和 郎

副 査 教 授 小 林 邦 彦

副 査 教 授 藤 本 征 一 郎

学 位 論 文 題 名

## 性分化異常症例における表現型／遺伝子型相関と Xモノソミー・モザイシズムとの関連について

産婦人科領域における性分化異常症例について表現型と遺伝子型の相関を細胞遺伝学的・分子遺伝学的に検討し、性分化異常症発症の遺伝学的機構を部分的にも解明することを目的とした。

対象は、臨床所見および細胞遺伝学的所見から性分化異常症が疑われた表現型女性 11 例（在胎 16 週～55 歳）、表現型男性 7 例（在胎 15 週～49 歳）の 18 症例である。本人あるいは家族の同意を得た後、末梢血リンパ球、皮膚、性腺、卵管、口腔粘膜、骨髄、羊水細胞、臍帯血、胎盤を検体として分析に用いた。各種分染法を用いた染色体分析により、染色体核型を明らかにするとともに、染色体の構造異常およびモザイシズムの有無を検索した。また、Y染色体上の 27 遺伝子座位についてサザンプロット法、PCR 法を用いて欠失の有無を解析し、Y染色体の deletion map を作成した。精巣決定遺伝子の *SRY* については PCR-SSCP 法ならびにシークエンス法を用いて塩基配列の変異の有無を検索した。構造異常染色体およびマーカー染色体について、FISH 法によりその構造および由来の同定を試みた。

染色体分析では、表現型女性、表現型男性に共通して、染色体構造異常（由来不明のマーカー染色体を含む）が半数以上の症例に認められ、これら構造異常染色体を有する症例では 45,X 核型を含むモザイシズム（Xモノソミー・モザイシズム）が高頻度に認められた。表現型女性ではモザイシズムを有する症例が多く、なかでもXモノソミー・モザイシズムの頻度は表現型男性に比べ高かった。一卵性双胎で表現型の男女が異なる症例において、組織別染色体分析により、構成する 3 核型の比率が血液では両者でほぼ同一であるものの、口腔粘膜、性腺においては差異が認められ、特に性腺においてXモノソミーの構成比率が男性表現型の児よりも女性表現型の児において高いことが明らかとなった。

Y染色体遺伝子解析では、表現型女性、表現型男性ともにY染色体 27 遺伝子座位について、全保有、部分欠失、全欠失の 3 群に分類された。*SRY* の存在は全保有の症例および部分欠失を有する症例の全てにおいて確認された。*SRY* を有する症例は表現型女性で 54.5% (6/11)、表現型男性では 85.7% (6/7) であり、表現型女性においても *SRY* を有している症例が存在することが示された。PCR-SSCP 法ならびにシークエンス法では、*SRY* の塩基配列に異常は認められなかった。

染色体分染法およびY染色体遺伝子解析と FISH 法との併用により、構造異常染色体お

よびマーカー染色体の構造解析ならびに由来の同定が可能であった。アンドロゲン受容体解析を行った2例では、ともに結合能は認められなかった。

Xモノソミー・モザイシズムを有する性分化異常症例における表現型の発現には、性腺分化決定（初期化）と性腺分化後における性腺形成・機能維持過程の両方において、Xモノソミー細胞に内在する特異な生物学的性質が関与していることが示された。このXモノソミー細胞の作用は、近接する *SRY* 陽性細胞ばかりではなく *SRY* 陰性細胞にも同様に及ぶと考えられ、Xモノソミー細胞の存在そのものが性分化異常症の新たな一つの成因と推察される。

公開発表に際し、副査の小林教授より、表現型の男女が異なる一卵性双胎における性分化機構について、*SRY* 陽性のXモノソミーにおいて表現型が女性型になる理由などについて、また副査の藤本教授からは、Xモノソミーの発生機序、とくに起源について、Xモノソミーのモザイシズムで *SRY* が陽性の場合の表現型女性の *SRY* 遺伝子の塩基配列の異常について、*SRY* 遺伝子が存在することと発現していることとの関係について、などの質問がそれぞれあった。主査の長嶋教授からは、この研究成果の臨床面への応用に対する申請者の抱負についての問いかけがあった。

いずれの質問に対しても、申請者は、対象症例の解析結果、最新の文献情報、自身の臨床経験をもとに概ね妥当な回答をなした。

審査員一同は、本研究の成果と申請者の研鑽を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。