



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1609号
学位記番号	第1144号
氏名	青山 幸平
授与年月日	平成 30年 3月 26日
学位論文の題名	<p>Molecular genetic and clinical delineation of 22 patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. (先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の22例における分子遺伝学的・臨床的概要)</p> <p>Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism. 2017;30(10):1111-1118.</p>
論文審査担当者	<p>主査： 杉浦 真弓 副査： 安井 孝周, 齋藤 伸治</p>

論 文 内 容 の 要 旨

【背景】先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症(以下、CHH)は、嗅覚障害を伴う Kallmann 症候群(以下、KS)と、嗅覚が正常の CHH(以下、nCHH)に大別される。これまでに CHH では 25 個以上の原因遺伝子が知られているが、遺伝学的に同定されるのは半数に満たない。

【目的】CHH の表現型と原因遺伝子との関係については、十分に確立されておらず、本論文の目的は日本人における CHH の原因遺伝子毎の頻度や遺伝子型と表現型の相関についての理解を深めることである。

【対象と方法】22 例(21 家系)の CHH の日本人患者を選定した。選定は、小陰茎や停留精巣を契機に乳児期早期の mini-puberty(ゴナドトロピンとテストステロンのホルモンサージ)を認めなかった男児の症例、15 歳まで精巣容積が 4cc 未満でゴナドトロピンの上昇を認めない男児の症例、もしくは、14 歳までに乳房発育を十分に認めず、かつ、16 歳までに初経未発来でゴナドトロピンの上昇を認めない女児の症例を対象とした。その中で、自覚症状として嗅覚異常を認めるか、もしくは、MRI 検査にて嗅球の形成異常を認めた場合 KS と診断し、それ以外は nCHH と診断した。遺伝子解析は HH の原因として報告のある遺伝子 26 個を含んだ Ion Ampliseq カスタムパネルを作成し、Ion PGM システムによりシーケンスを施行した。これらで得られたシーケンス結果は CLC Genomics Workbench で解析を行い、IonReporter を用いてコピー数変異を検出した。これで原因が同定されず、かつ難聴を伴う場合は、難聴を伴う KS の原因遺伝子として近年新たに知られるようになった *SOX10* 遺伝子の翻訳領域をサンガー法にてシーケンスを行った。さらに、これらで原因が同定されず、かつ、両親の DNA が得られた場合には、4813 遺伝子を含んだ TruSightOne パネルを用いて、MiSeq システムでトリオ解析を行った。

【結果】KS の 18 例、nCHH の 4 例で、計 22 例(21 家系)の CHH うち 7 例は mini-puberty を認めないことが診断契機となった。nCHH の 2 例のみが女性であった。男性 CHH の 20 例のうち小陰茎と停留精巣を認めないのはそれぞれ 3 例と 12 例であった。停留精巣を認めない 12 例のうち 3 例は遊走精巣であった。本論文では、21 家系中、11 家系で、12 個の病原性の可能性のある変異を同定した。3 家系で *ANOS1* 変異(X 染色体劣性遺伝形式)、3 家系で *FGFR1* 変異と 4 家系で *CHD7* 変異(常染色体優性遺伝形式)、1 家系で 2 つの *TACR3* 変異(常染色体劣性遺伝形式)を同定した。*CHD7* 変異をもつ 4 例のうち 2 例(KS8, KS10)は口唇口蓋裂を、1 例(KS8)は難聴を有した。反対に難聴を伴う CHH の 5 例の中では KS8 のみが *CHD7* 変異を認め、残り 4 例は *SOX10* を含めたいずれの変異も同定されなかった。*ANOS1* 変異をもつ 4 例のうち、1 例(KS9-1)は片側腎欠失と鏡像運動を認めた。*FGFR1* 変異をもつ 1 例(KS16)は hCG 負荷試験後の LH とテストステロンが、他と比較して高値であった。また、*CHD7* 変異をもつ 1 例(KS12)は LH, FSH が他の症例と比べて高値であった。

【考察】既報では、CHH 全体で主な原因遺伝子の頻度は *ANOS1* 5~10%、*FGFR1* 10%、*CHD7* 6%、*SEMA3A* 6%、*PROKR2* 5%、*TACR3* 5~6% と報告があり、本論文でも概ね似た結果であった。KS に限ると、*CHD7* 変異が 11.4%(209 例中 24 例)で認めたとの報告があるが、本論文では 23.5%(KS 17 家系中 4 家系)とより高頻度であった。*CHD7* 変異は眼コロボーマ、心奇形、後鼻腔閉鎖、精神運動発達遅滞、外性器異常、耳介異常などを主な症状とする CHARGE 症候群の原因となることが知られており、短縮型変異よりミスセンス変異で KS になる頻度が高いと言われている。本論文で

も *CHD7* の短縮型変異の 1 例(KS8)は CHARGE 症候群の関連症状(口唇口蓋裂、難聴)を他のミスセンス変異 3 例と比べて強く有した。*FGFR1* 変異は口唇口蓋裂と裂手が 8 例中 2 例で認めたとの報告があるが、本論文における 3 例の *FGFR1* 変異保有者ではいずれの症状も認めなかった。*ANOS1* 変異による KS は片腎欠失と鏡像運動が生じうるが、本論文では、*ANOS1* 変異による KS9-1 でこれらの症状を有したが、同じ変異による兄(KS9-2)ではこれらの随伴症状は認めなかった。過去にも一卵性双生児の *ANOS1* による KS で表現型の差異を認めた症例が報告されており、遺伝子変異以外の要因も表現型に影響することが考えられた。*ANOS1*、*FGFR1*、*CHD7*、*PROKR2*、*GNRHR*、*TAC3*、*TACR3* による CHH では、生殖機能の回復が稀ではあるが報告されている。本論文における *TACR3* 変異の複合ヘテロ接合性変異を有した nCHH2 は部分的には乳房腫大が来ており、また、*CHD7* 変異の KS12 では LH,FSH が比較的高値の例が含まれており、軽症の CHH の場合があるという既報に合致した。過去には oligogenic な複数遺伝子の変異保有が CHH で見つかりうるという報告が散見されるが、本論文では認めていない。これは過去の報告が保有頻度が高く CHH の表現型には寄与しないであろう多型も、CHH の原因として報告していたことによるのかもしれない。

【結論】本論文では、日本人 CHH 患者における原因遺伝子と表現型の関係について検討し、*ANOS1*、*CHD7*、*FGFR1*、*TACR3* の変異の頻度は、既報と類似したものと考えられた。ただし、KS の原因として、*CHD7* はより一般的である可能性が示唆された。(1966 文字)

論文審査の結果の要旨

【背景】先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症(CHH)は、嗅覚障害を伴う Kallmann 症候群(以KS)と、嗅覚が正常の CHH(nCHH)に大別される。CHH は 25 個以上の原因遺伝子が知られているが、遺伝学的に同定されるのは半数に満たない。【対象と方法】22 例(21 家系)の CHH の日本人患者を選定した。選定は、小陰茎や停留精巣を契機に乳児期早期の mini-puberty(ゴナドトロピンとテストステロンのホルモンサージ)を認めなかった男児の症例、15 歳まで精巣容積が 4cc 未満でゴナドトロピンの上昇を認めない男児の症例、もしくは、14 歳までに乳房発育を十分に認めず、かつ、16 歳までに初経未発来でゴナドトロピンの上昇を認めない女児の症例を対象とした。遺伝子解析は HH の原因として報告のある遺伝子 26 個を含んだ Ion Ampliseq カスタムパネルを作成し、Ion PGM システムによりシーケンスを施行した。これで原因が同定されず、かつ難聴を伴う場合は、難聴を伴う KS の原因遺伝子として近年新たに知られるようになった *SOX10* 遺伝子の翻訳領域をサンガー法にてシーケンスを行った。さらに、これらで原因が同定されず、かつ、両親の DNA が得られた場合には、4813 遺伝子を含んだ TruSightOne パネルを用いて、MiSeq システムでトリオ解析を行った。【結果】KS の 18 例、nCHH の 4 例で、計 22 例(21 家系)の CHH を対象とした。CHH うち 7 例は mini-puberty を認めないことが診断契機となった。nCHH の 2 例のみが女性であった。21 家系中、11 家系で、12 個の病原性の可能性のある変異を同定した。3 家系で *ANOS1* 変異(X 染色体劣性遺伝形式)、3 家系で *FGFR1* 変異と 4 家系で *CHD7* 変異(常染色体優性遺伝形式)、1 家系で 2 つの *TACR3* 変異(常染色体劣性遺伝形式)を同定した。*CHD7* 変異をもつ 4 例のうち 2 例(KS8, KS10)は口唇口蓋裂を、1 例(KS8)は難聴を有した。反対に難聴を伴う CHH の 5 例の中では KS8 のみが *CHD7* 変異を認め、残り 4 例は *SOX10* を含めたいずれの変異も同定されなかった。【考察】既報では、CHH 全体で主な原因遺伝子の頻度は *ANOS1* 5~10%、*FGFR1* 10%、*CHD7* 6%、*SEMA3A* 6%、*PROKR2* 5%、*TACR3* 5~6%と報告があり、本論文でも概ね似た結果であった。KS に限ると、*CHD7* 変異が 11.4%(209 例中 24 例)で認めたとの報告があるが、本論文では 23.5%(KS 17 家系中 4 家系)とより高頻度であった。*ANOS1*、*FGFR1*、*CHD7*、*PROKR2*、*GNRHR*、*TAC3*、*TACR3* による CHH では、生殖機能の回復が稀ではあるが報告されている。本論文における *TACR3* 変異の複合ヘテロ接合性変異を有した nCHH2 は部分的には乳房腫大が来ており、また、*CHD7* 変異の KS12 では LH,FSH が比較的高値の例が含まれており、軽症の CHH の場合があるという既報に合致した。

【審査の内容】約 20 分間のプレゼンテーションの後に、主査の杉浦からは各遺伝子の遺伝様式、対象に男児が多い理由、治療方法、遺伝子診断の意義、ACMG ガイドラインの未知の遺伝子に関わる場合の判定について等、11 項目の質問がなされた。また第一副査の安井教授からは、本研究の目的の先にある最終目標、海外の報告との違い、停留精巣合併例と非合併例の違い、外陰部の形態異常と遺伝子の関係、*CHD7* の機能・発現について等、9 項目の質問がなされた。第二副査の齋藤教授からは専門領域に関連して、一般的な CHH での妊孕性の現状と治療による反応性、中枢性に限らず全般的な性腺機能低下症の概要・鑑別方法、性腺機能低下症の治療ストラテジーについて、3 項目の質問がなされた。いずれに対しても概ね満足のいく回答が得られ、学位論文の主旨を十分理解していると判断した。本研究は、日本人 CHH の原因遺伝子と臨床像を詳細に検討した論文であり、意義がある。以上をもって本論文の著者には、博士(医学)の称号を与えるに相応しいと判断した。

論文審査担当者 主査 杉浦 真弓

副査 副査 安井 孝周、 齋藤 伸治