

令和元年6月12日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09627

研究課題名(和文)先天性ゴナドトロピン分泌不全症男性の網羅的遺伝子解析と精子形成治療法選択への応用

研究課題名(英文) Comprehensive next-generation sequencing analyses for therapeutic application to get fertility in congenital hypogonadotropic hypogonadism males

研究代表者

水野 晴夫 (Mizuno, Haruo)

国際医療福祉大学・医学部・教授

研究者番号：70363942

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症(CHH)と臨床的に診断された男性に対し、集積した患者に対しましてCHHとして報告のある26遺伝子と、それに関連しうる遺伝子を含めた48遺伝子に限った網羅的遺伝子解析を行った。その結果、遺伝子解析が同定できた患者は2/3程度に留まった。実際の臨床経過と比較すると、現在治療中の最年長患者が24歳であり、妊孕性についてどのような治療プロトコルが最善かを言及するまでには至らなかった。以前から提唱されているrhFSHの先行投与についても、精巣容積の極めて小さな男性では精巣の発育も認めることがなかった。治療に対する反応性は個人差が大きいことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症(CHH)男性の治療については、いまだ、明らかなエビデンスのある妊孕性に最適な治療プロトコルは確立されていない。本研究では、先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症男性の網羅的遺伝子解析を施行し、2/3程度の患者で責任遺伝子の異常を確認できた。当初の目的であった正確な遺伝子診断に基づいたテーラーメイド医療の確立までは到達できなかったが、CHH男性の遺伝子解析を多く行い、2/3程度ではあるが、その責任遺伝子を確定できたことことで、今後のテーラーメイド医療につながるものと考えている。全エクソーム解析の発展より全ての患者の責任遺伝子が解明されることを期待したい。

研究成果の概要(英文)：We investigated comprehensive genes analysis for the patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism (CHH) diagnosed clinically to determine how we could do our best to get fertility in CHH males. As a result, we could clarify the responsible gene mutations in only 2/3 patients. The oldest patient was twenty-four years old. So, we could not reach the conclusion what kinds of treatment was the best to get fertility in CHH males. As previous described, we tried to do rhFSH pretreatment followed by gonadotropin therapy. However, some CHH males with extremely small testes did not response. It was suggested that the reactivity to some kinds of treatment depends on individual in CHH males.

研究分野：小児科

キーワード：ゴナドトロピン分泌低下症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 男性で14歳になっても二次性徴が発来せず、さらに経過をみても永続的に二次性徴が発来しない、発来はするが完成しない場合を男性性腺機能低下症と言う。その中で、視床下部-下垂体に病態が存在しゴナドトロピンが上昇しない場合を低ゴナドトロピン性性腺機能低下症と呼ぶ。この性腺機能低下に対する治療の目的は、二次性徴の発現・成熟と妊孕性の獲得である。ただし、妊孕性の獲得のためにどのような治療を行うのがよいかについてはいまだに確立されていない。とりわけ、先天性にゴナドトロピンが欠損している児においては、生後の精巣発育はきわめて悪く (Pitteloud N et al., *J Clin Endocrinol Metab* 87: 152-60, 2002) GnRH療法、あるいは古典的なhCGとrhFSHを併用するゴナドトロピン療法では精子形成を導くことが難しい症例が存在することが報告されている。日本では従来、hCG (Human Chorionic Gonadotrophin) でまず精巣の発育を促し、その後挙児を希望した際に rhFSH (follitropin alfa (genetical recombination)) を追加するという方法が汎用されている。これまでに、申請者らは先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症男性では、精子形成以前の段階で、精巣の発育、テストステロンの上昇をも促すことが難しいことを経験してきた。Dwyer AAらは、rhFSHを単独で先行投与し、セルトリ細胞、精原細胞の数を増やすことが未熟な精巣の発育誘導に重要であることを明らかにしている (Dwyer AA et al., *J Clin Endocrinol Metab* 98: E1790-5, 2013)。

(2) 申請者らは、以前より「思春期発来に関与する遺伝子の網羅的解析」(2012年度・基盤研究C・研究課題番号: 24591520)のテーマで、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析を先天性ゴナドトロピン単独欠損症男児に広く行ってきた。先天性の患者で、精巣容積4ml以下の患者で、治療前の精巣容積が1ml以下から3-4ml程度とバリエーションが大きいこと、従来のhCG単独で二次性徴を誘導できる患者も存在し、異常を持つ遺伝子の種類、あるいは遺伝子異常のタイプによっても妥当な治療に違いがあるのではないかとこの発想に至った。先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症として報告のある26遺伝子と、それに関連する遺伝子を含めた48遺伝子に限った網羅的遺伝子解析を行った結果、臨床的に明らかに先天性ゴナドトロピン単独欠損症患者であっても異常が見つからない場合も多いことがわかってきた。

2. 研究の目的

先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症男性の妊孕性獲得のための最善な方法は確立していない。特に先天的に中枢が障害を受けている場合には精巣発育は極めて悪く、従来のゴナドトロピン療法では精巣発育を促すことに限界を感じてきた。本研究では、全エクソシーケンス技術を用い、原因遺伝子を明らかにした上で各治療法への反応みることにより、男性化不全、不妊症で苦しむ低ゴナドトロピン性性腺機能低下症男性に対し、テーラーメイド化した効率のよい治療を提供したいと考えた。

3. 研究の方法

先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の臨床像の幅広さを考慮し、14歳をすぎても二次性徴が発来しない、あるいは正常に進行しない男性患者を対象に、次世代シーケンサー技術を用いて候補遺伝子の網羅的解析を行う。新規変異が同定された場合には、*in silico*での機能解析、あるいは各遺伝子ですでに報告されている方法に準じて機能解析を行う。実際には、以前から行っている48遺伝子にターゲットを絞った解析では異常が見つからない症例があるため、4813遺伝子を網羅的に解析できるTruSightOneシーケンスパネルによる遺伝子解析システムを構築すること、さらにCLC Genomics Workbench (QIAGEN)による両親の検体も含めたトリオ解析を併用することで、より正確な遺伝子診断を行った後、治療に対する反応性との対比を行う。

4. 研究成果

先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症(CHH)と臨床的に診断された男性に対して、集積した患者に対しまずCHHとして報告のある26遺伝子と、それに関連する遺伝子を含めた48遺伝子に限った網羅的遺伝子解析を行った。その結果、遺伝子解析が同定できた患者は2/3程度に留まった。実際の臨床経過と比較すると、現在治療中の最年長患者が24歳であり、妊孕性についてどのような治療プロトコルが最善かを言及するまでには至らなかった。以前から提唱されているrhFSHの先行投与についても、精巣容積の極めて小さな男性では精巣の発育を認めることがなかった。治療に対する反応性は個人差が大きいことが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

Aoyama K, Mizuno H, Tanaka T, Togawa T, Negishi Y, Ohhashi K, Hori I, Izawa M, Hamajima T, Saitoh S. Molecular genetic and clinical delineation of 22 patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 30: 1111-1118, 2017

Sakata S, Okada S, Aoyama K, Hara K, Tani C, Kagawa R, Utsunomiya-Nakamura A, Miyagawa S, Okada T, Mizuno H, Kobayashi M. Individual Clinically Diagnosed with

〔学会発表〕(計7件)

- 青山幸平, 田中達之, 鈴木敦詞, 水野晴夫. LHRH アナログ治療を施行した中枢性思春期早発症 69 例の臨床像の検討. 第 91 回日本内分泌学会学術集会. 2018 年 4 月 26 日-28 日, 宮崎
- 坂田園子, 岡田賢, 青山幸平, 原圭一, 香川礼子, 宇都宮朱里, 緒方勤, 水野晴夫, 小林正夫. CHARGE 症候群と歌舞伎症候群の臨床的類似性がうかがわれた 1 例. 第 51 回日本小児内分泌学会学術集会. 2017 年 9 月 28 日-30 日, 大阪
- Aoyama K, Atsushi S, Tanaka T, Mizuno H, Saitoh S. Molecular Genetic Diagnosis of Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism by Using Targeted Next-Generation Sequencing. 55th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology, September 10-12, 2016 Paris, France
- Aoyama K, Mizuno H, Tanaka T, Suzuki A, Inaba M, Mizuno S, Saitoh S. The various phenotypes of ten CHARGE syndrome cases with identified pathogenic CHD7 mutations. The 9th Biennial Scientific Meeting of the Asia Pacific Paediatric Endocrine Society. November 17-20, 2016 Tokyo, Japan
- 青山幸平, 田中達之, 鈴木敦詞, 水野健太郎, 林祐太郎, 水野晴夫. 部分型アンドロゲン不応症が疑われる 4 例の臨床経過と問題点. 第 90 回日本内分泌学会学術集会. 2017 年 4 月 20 日-22 日, 京都
- 青山幸平, 水野晴夫, 田中達之, 齋藤伸治. 先天性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症に対する網羅的解析. 第 49 回日本小児内分泌学会学術集会. 2015 年 10 月 8 日-10 日, 東京
- 田中達之, 青山幸平, 水野晴夫. 先天性複合型下垂体機能低下症の発見契機と頭部MRIでの後葉検索の重要性. 第 87 回日本内分泌学会学術集会. 2015 年 4 月 23 日-25 日, 東京

〔図書〕(計9件)

- 水野晴夫. 【小児疾患の診断治療基準】(第2章)疾患 内分泌疾患 思春期遅発症・性腺機能低下症. *小児内科.* 50:212-213, 2018
- 水野晴夫. 【停留精巣のすべて-小児から成人への架け橋】<診断> 停留精巣の随伴症状 泌尿器科医も知っておきたい小児科疾患. *臨床泌尿器科.* 72:774-779, 2018
- 水野晴夫. こんな時どうすれば!? 内分泌・脂質・尿酸コンサルタント. ライフステージを考えた中枢性性腺機能低下症の治療をどう進めますか? p123-128. 金芳堂. 2018. 鈴木敦司編. 共著
- 水野晴夫. 【そうだったのか!今すぐ役立つ小児内分泌のコツ】 そうだったのか!ここさえおさえれば怖くない問診・理学的所見・初診時検査のコツ 思春期が早い. *小児科診療.* 8:663-669, 2017
- 水野晴夫. 【小児科ケースカンファレンス】 先天代謝異常、内分泌疾患 混合性性腺異形成症. *小児科診療* 80 増刊号: 94-97, 2017
- 水野晴夫. 【小児内分泌アドバンス】 性腺 男性性腺機能低下症. *小児内科.* 49:256-259, 2017
- 水野晴夫. 【知って得する小児内分泌代謝領域の話題】 下垂体機能低下症を診るうえでの臨床的問題点 新生児期から思春期・成人期移行まで. *小児科臨床.* 70:19-24, 2017
- 水野晴夫. 【小児科医が担う思春期医療】 身体的健康問題 内分泌疾患. *小児内科* 48:319-323, 2016
- 水野晴夫. 【小児疾患診療のための病態生理 2 改訂第 5 版】 . 内分泌疾患 体質性思春期遅発症. *小児内科.* 47 増刊号:373-376, 2015

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況（計0件）

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：齋藤伸治

ローマ字氏名：Saitoh Shinji

所属研究機関名：名古屋市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：00281824

(2)研究協力者：なし