

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：23701

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19575

研究課題名（和文）XX性分化疾患モデルマウスの確立とその薬物治療開発に関する総合研究

研究課題名（英文）Establishment of XX disorder of sex development model mice and the development of its pharmacological treatment

研究代表者

中西 剛（Nakanishi, Tsuyoshi）

岐阜薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：50303988

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、Cre組換え酵素依存的に17 β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素3型と改良型緑色蛍光タンパク質の融合蛋白質を胎生期から高発現させることで、胎仔に高用量のアンドロゲンに曝露できるトランスジェニックマウスを作製し、46,XX性分化疾患（DSD）の病態モデルとしての有用性を確認した。また本疾患モデルマウスを用いて、アンドロゲン受容体拮抗薬を用いた薬物治療の可能性についても検討を行ったところ、胎生期からの投与により外性器形成や生殖機能について一部回復が認められたものの、完全に回復するわけではないことも明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究によりXX-DSDがアンドロゲンシグナルの異常に起因することが解明され、アンドロゲンシグナルを抑制する薬物治療によりある程度の回復が見込める可能性が示された。特に外性器の外科的治療では解決できない性自認の問題については、早期に外科的処置とともに対応する必要があると考えられるが、本研究成果をベースにその方法論の確立が期待される。また本モデルマウスを用いて、発生段階および出生以降の生殖器・泌尿器形成に関する病態進行の分子メカニズムを解明できれば、新たな治療薬や治療戦略の確立にも繋がるかもしれない。これらが実現できれば、本疾患における患者のQOLの向上に大きく貢献できるものと期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we generated transgenic mice that can be exposed to high doses of androgens in utero through Cre recombinase-dependent expression of a fusion protein of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 and enhanced green fluorescent protein from the embryonic stage. We confirmed the pathological 46,XX disorder of sex development (DSD) in these mice, demonstrating their usefulness as a model for 46,XX DSD. Additionally, we investigated the potential of drug treatment with androgen receptor antagonists in this DSD mouse model. We found that administration from the embryonic period resulted in partial recovery of external genitalia formation and reproductive function, though not complete recovery.

研究分野：毒性学、内分泌学

キーワード：アンドロゲン 外性器形成 17 β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素 トランスジェニックマウス

1. 研究開始当初の背景

近年、性の揺らぎは、大きな社会問題となりつつある。46,XX 性分化疾患 (46,XX-DSD) は、染色体の核型が 46,XX でありながら、外陰部の男性化を認める疾患群である。その多くは内分泌機能に関与する酵素群や卵巣分化の遺伝的素因に基づく先天性異常によると報告されているが、前者における直接的な要因は外性器形成期の過剰なアンドロゲンシグナルにあると考えられている[1]。しかし、先天性副腎過形成の症例の大部分を占める 21-水酸化酵素 (P450c21) 欠損症[1]は、アンドロゲン合成に直接関わらない酵素の欠損であるにも関わらず、46,XX-DSD の原因となる(図 1)。またこの症例では、胎生期に糖質コルチコイドであるデキサメタゾン (DEX) を投与する治療法が既に行われており、これにより外性器の男性化が有意に改善される。作用機構としては、DEX の投与によって副腎過形成が抑制された結果、副次的にアンドロゲンレベルが低下し、外性器の男性化が抑制されたものと考えられているが、副腎自体に直接影響が生じるとは考えにくい極低用量の DEX 投与でも症状が改善する[2]ことから、46,XX-DSD が過剰なアンドロゲンシグナルによって誘導されるという定説は未だ仮説の域を出ておらず、科学的根拠が脆弱なままである。

一方で、46,XX-DSD の治療法については P450c21 欠損症における DEX 療法を除いては、専ら外科的な対処療法が行われているのが現状である。もしこの疾患群が、定説通り過剰なアンドロゲンシグナルのみで誘導されているのであれば、遺伝的素因に基づく先天性疾患であったとしても過剰シグナルを抑制する薬物を用いることで大幅な緩解が期待されるが、そのような薬物治療に関する情報はおろか、それを検証するための疾患モデル動物の確立も十分ではない。

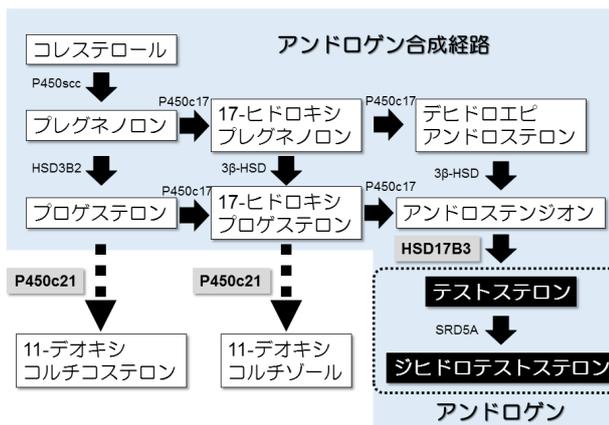


図 1：ステロイドホルモン合成経路の概略

2. 研究の目的

本研究では、申請者が独自に作製したアンドロゲン高産生マウスを用いて、XX-DSD の原因が過剰なアンドロゲンシグナルであるか否かを明確にするとともに、このマウスの XX-DSD モデルとしての有用性についての検証も行う。さらにこのマウスを用いてアンドロゲン受容体拮抗薬等による薬物治療を試み、XX-DSD に対する根本的な薬物治療法確立の可能性についても検証を行う。

3. 研究の方法

後日、再提出予定。

4. 研究成果

後日、再提出予定。

<引用文献>

- 1) Grinspon, R.P., R.A. Rey, Disorders of Sex Development with Testicular Differentiation in SRY-Negative 46,XX Individuals: Clinical and Genetic Aspects. *Sex. Dev.*, 10: 1-11 (2016).
- 2) New, M.I., et al., Prenatal diagnosis for congenital adrenal hyperplasia in 532 pregnancies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 86: 5651-7 (2001).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ishida Keishi, Furukawa Motoshi, Kunitani Masataka, Yamagiwa Rai, Hiromori Youhei, Matsumaru Daisuke, Hu Jiaying, Nagase Hisamitsu, Nakanishi Tsuyoshi	4. 巻 445
2. 論文標題 Novel, highly sensitive, in vivo screening method detects estrogenic activity at low doses of bisphenol A	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Hazardous Materials	6. 最初と最後の頁 130461 ~ 130461
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jhazmat.2022.130461	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Tanaka Kosei, Matsumaru Daisuke, Suzuki Kentaro, Yamada Gen, Miyagawa Shinichi	4. 巻 65
2. 論文標題 The role of p63 in embryonic external genitalia outgrowth in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Development, Growth and Differentiation	6. 最初と最後の頁 132 ~ 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12840	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Acebedo Alvin R, Alcantara Mellissa C, Nakanishi Tsuyoshi, Ogawa Takehiko, Yamada Gen, Suzuki Kentaro	4. 巻 190
2. 論文標題 Exposure to the Organophosphate Pesticide Fenitrothion Directly Induced Defects in Mouse Embryonic External Genitalia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 13 ~ 22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/toxsci/kfac085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 中西 剛	4. 巻 58
2. 論文標題 内分泌かく乱に起因する生殖発生毒性評価の問題点とその将来展望	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ファルマシア	6. 最初と最後の頁 44 ~ 49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14894/faruawpsj.58.1_44	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ogushi Shoko, Nakanishi Tsuyoshi, Kimura Tomoki	4. 巻 191
2. 論文標題 Cadmium inhibits differentiation of human trophoblast stem cells into extravillous trophoblasts and disrupts epigenetic changes within the promoter region of the <i>HLA-G</i> gene	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 25 ~ 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/toxsci/kfac118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishida Keishi, Matsumaru Daisuke, Shimizu Shinya, Hiromori Youhei, Nagase Hisamitsu, Nakanishi Tsuyoshi	4. 巻 45
2. 論文標題 Evaluation of the Estrogenic Action Potential of Royal Jelly by Genomic Signaling Pathway <i>in Vitro</i> and <i>in Vivo</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1510 ~ 1517
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b22-00383	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 中西 剛	4. 巻 58
2. 論文標題 内分泌かく乱に起因する生殖発生毒性評価の問題点とその将来展望	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ファルマシア	6. 最初と最後の頁 44 ~ 49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14894/faruawpsj.58.1_44	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Haraguchi Ryuma, Yamada Gen, Murashima Aki, Matsumaru Daisuke, Kitazawa Riko, Kitazawa Sohei	4. 巻 22
2. 論文標題 New Insights into Development of Female Reproductive Tract?Hedgehog-Signal Response in Wolffian Tissues Directly Contributes to Uterus Development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1211 ~ 1211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22031211	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ma Haojia, Ishida Keishi, Xu Chenke, Takahashi Kyosuke, Li Yu, Zhang Chenhao, Kang Qiyue, Jia Yingting, Hu Wenxin, Matsumaru Daisuke, Nakanishi Tsuyoshi, Hu Jianying	4. 巻 290
2. 論文標題 Triphenyl phosphate delayed pubertal timing and induced decline of ovarian reserve in mice as an estrogen receptor antagonist	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environmental Pollution	6. 最初と最後の頁 118096 ~ 118096
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envpol.2021.118096	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 中西 剛
2. 発表標題 生体イメージングの毒性学・環境衛生学研究への応用に関する研究
3. 学会等名 フォーラム2023：衛生薬学・環境トキシコロジー (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Daisuke Matsumaru, Riko Yoshida, Yuta Mori, Keishi Ishida, Kyoko Mekada, Hozumi Motohashi, Tsuyoshi Nakanishi
2. 発表標題 Establishment and characterization of genetic mouse model of polycysticovary syndrome
3. 学会等名 2023 Japan/Korea Joint Symposium on Pharmaceutical Health Science and Environmental Toxicology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 糟谷 佐保里, 目加田 京子, 小泉 茉奈海, 石田 慶士, 松丸 大輔, 村嶋 亜紀, 諫田 泰成, 中西 剛
2. 発表標題 妊娠期甲状腺機能低下による甲状腺関連パラメータの変動と胎仔発生への影響評価
3. 学会等名 第50回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石田 慶士、中西 剛
2. 発表標題 ダイオキシン類の多様なエストロゲンシグナルかく乱作用
3. 学会等名 第49回日本毒性学会学術年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石田 慶士，目加田 京子，松丸 大輔，中西 剛
2. 発表標題 代替ビスフェノールfluorene-9-bisphenol の甲状腺関連指標と胎仔発生への影響評価
3. 学会等名 第63 回日本先天異常学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 糟谷 佐保里，目加田 京子，小泉 茉奈海，石田 慶士，松丸 大輔，村嶋 亜紀，諫田 泰成，中西 剛
2. 発表標題 化学物質誘導性の母体甲状腺機能低下による甲状腺関連指標の変動と胎仔発生への影響評価
3. 学会等名 第63 回日本先天異常学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 糟谷 佐保里，目加田 京子，小泉 茉奈海，石田 慶士，松丸 大輔，村嶋 亜紀，諫田 泰成，中西 剛
2. 発表標題 化学物質誘導性の妊娠期甲状腺機能低下による甲状腺関連指標の変動と胎仔発生毒性の評価
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ogushi S, Nakanishi T, Kimura T
2. 発表標題 Effect of cadmium on human trophoblast differentiation
3. 学会等名 The 8th International Symposium on Metallomics (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小串 祥子、中西 剛、木村 朋紀
2. 発表標題 カドミウムによる絨毛外性栄養膜細胞HTR-8/SVneoの遊走阻害
3. 学会等名 第49回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山際 頼、國谷 昌毅、石田 慶士、松丸 大輔、中西 剛
2. 発表標題 代替ビスフェノール9,9-Bis(4-hydroxyphenyl)-fluorene の内分泌かく乱作用に関する検討
3. 学会等名 フォーラム2022：衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小串 祥子、中西 剛、木村 朋紀
2. 発表標題 カドミウムによる絨毛外性栄養膜細胞の遊走・浸潤阻害
3. 学会等名 フォーラム2022：衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小串 祥子、太田 怜志、中西 剛、木村 朋紀
2. 発表標題 金属曝露の絨毛外性栄養膜細胞機能への影響評価
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山際 頼、國谷 昌毅、石田 慶士、松丸 大輔、中西 剛
2. 発表標題 代替ビスフェノール9,9-Bis(4-hydroxyphenyl)-fluoreneの女性ホルモン様作用に関する検討
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田 莉子、松丸 大輔、石田 慶士、目加田 京子、本橋 ほづみ、中西 剛
2. 発表標題 遺伝学的アンドロゲン高産生マウスの多嚢胞性卵巣症候群様症状は酸化ストレス制御によって改善されうる
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中西 剛
2. 発表標題 アンドロゲン高産生マウスを用いたアンドロゲン依存的なエンドポイントの同定と毒性試験への応用
3. 学会等名 日本薬学会第142年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石田 慶士、中西 剛
2. 発表標題 ダイオキシンによる多様なエストロゲンシグナルかく乱作用
3. 学会等名 日本薬学会第142年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中西 剛
2. 発表標題 In vivoイメージングを応用した新規エストロゲン作動性スクリーニング試験法の確立
3. 学会等名 第23回環境ホルモン学会研究発表会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中西 剛
2. 発表標題 アンドロゲン高産生マウスを用いたアンドロゲン作動性に起因するエンドポイントの同定と毒性試験への応用
3. 学会等名 第48回日本毒性学会学術年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本小児泌尿器科学会	4. 発行年 2021年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 368
3. 書名 小児泌尿器科学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	松丸 大輔 (Matsumaru Daisuke) (50624152)	岐阜薬科大学・薬学部・准教授 (23701)	
研究分担者	水野 健太郎 (Mizuno Kentaro) (70448710)	名古屋市立大学・薬学総合研究院(医学)・准教授 (23903)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
中国	Peking University			