

## P450 Oxidoreductase遺伝子異常症：

## 男女共通の性分化異常を招く新規遺伝子疾患

国立成育医療センター研究所小児思春期発育研究部

緒方 勤, 深見真紀

はじめに

従来より、内分泌検査成績からCYP21A2 (21-hydroxylase)とCYP17A1 (17 $\alpha$ -hydroxylase/17,20 lyase)の複合型障害を呈すると考えられる患者が報告されていた。しかし、これらの患者においてCYP21A2およびCYP17A1の遺伝子変異は同定されず、その原因は長い間不明であった。

一方、Antley-Bixler症候群 (ABS) という頭蓋骨早期融合、上腕骨橈骨融合、多発指趾間接拘縮等により特徴づけられる先天性骨系統疾患が存在し、このABSは、男女共通の外陰部異常を伴う群と伴わない群に大別されていた。外陰部異常を伴わないABSは、常染色体優性疾患で、FGFR2のヘテロ変異が同定されたことからPfeiffer症候群の亜型と考えられている。外陰部異常を

伴うABSは、常染色体劣性疾患で、しばしばステロイド合成障害を合併することが判明している。しかし、なぜ外陰部異常症が男女に共通するかは未解明で、その責任遺伝子も不明であった。

2004年、P450 oxidoreductase (POR) 遺伝子変異が、複合型ステロイド合成障害および外陰部異常を伴うABSを招くことが明らかとなった。PORは、ミクロゾームの電子伝達を支配し、ミクロゾームに存在するCYP51A1, CYP17A1, CYP21A2, CYP19A1を含む全てのP450酵素およびsqualene epoxidase (SQLE)などの複数の非P450酵素の活性化に必須である。以下、われわれが見出した日本人10例 (男性4例, 女性6例; 2組の同胞対, 6例の孤発例)における知見を主に、この新規遺伝子疾患について概説する。

表1 Summary of molecular analysis

	Mutation		Single nucleotide polymorphism (SNP) <sup>d</sup>									
	Nucleotide change <sup>a</sup>	Aminoacid change	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cases 1 and 2	1370G>A / 1835_1858del <sup>b</sup>	R457H / L612_W620delinsR	A/A	G/G	G/A	C/G	C/C	G/G	T/C	G/T	T/C	C/T
Father	1370G>A / (-)	R457H / (-)	A/A	G/G	G/A	C/G	C/C	G/G	T/T	G/G	T/C	C/T
Mother	1835_1858del <sup>b</sup> / (-)	L612_W620delinsR / (-)	A/A	G/G	A/A	G/G	C/C	G/G	C/C	T/T	C/C	T/T
Cases 3 and 4	1329_1330insC / 1733A>G	I444fsX449 / Y578C	G/G	G/G	A/A	G/G	T/T	A/A	C/C	T/T	C/C	C/C
Mother	1329_1330insC / (-)	I444fsX449 / (-)	G/G	G/G	A/A	G/G	T/T	A/A	C/C	T/T	C/C	C/C
Case 5	(15A>G) <sup>c</sup> / 1370G>A	(G5G) <sup>c</sup> / R457H	G/A	A/G	A/G	G/C	T/C	A/G	C/T	T/G	C/T	C/C
Father	(15A>G) <sup>c</sup> / (-)	(G5G) <sup>c</sup> / (-)	G/A	A/G	A/A	G/C	T/C	A/G	C/C	T/T	C/C	C/T
Mother	1370G>A / (-)	R457H / (-)	A/A	G/G	G/A	C/G	C/C	G/G	T/C	G/T	T/C	C/T
Case 6	1370G>A / 1370G>A	R457H / R457H	A/A	G/G	G/G	C/C	C/C	G/G	T/T	G/G	T/T	C/C
Case 7	1370G>A / (-)	R457H / (-)	A/A	G/G	G/A	C/G	C/C	G/G	T/C	G/T	T/C	C/T
Case 8	1370G>A / 1370G>A	R457H / R457H	A/A	G/G	G/G	C/C	C/C	G/G	T/T	G/G	T/T	C/C
Father	1370G>A / (-)	R457H / (-)	A/G	G/G	G/A	C/G	C/C	G/G	T/C	G/T	T/C	C/T
Mother	1370G>A / (-)	R457H / (-)	A/G	G/G	G/A	C/G	C/T	G/A	T/C	G/T	T/C	C/T
Case 9	1329_1330insC / 1370G>A	I444fsX449 / R457H	G/A	G/G	A/G	G/C	T/C	A/G	C/T	T/G	C/T	C/C
Case 10	1370G>A / 1370G>A	R457H / R457H	A/A	G/G	G/G	C/C	C/C	G/G	T/T	G/G	T/T	C/C
Father	1370G>A / (-)	R457H / (-)	A/A	G/G	G/A	C/G	C/C	G/G	T/C	G/T	T/C	C/T
Mother	1370G>A / (-)	R457H / (-)	A/G	G/G	G/A	C/G	C/C	G/G	T/C	G/T	T/C	C/C

The (-) symbol indicates the absence of a recognizable mutation.

<sup>a</sup> The A of the ATG encoding the initiator methionine residue of the predicted translation product is denoted position +1.

<sup>b</sup> 1835\_1858delTAAAGCAAGACCGAGAGCACCTGT.

<sup>c</sup> This silent mutation is absent in 100 Japanese control subjects.

<sup>d</sup> SNP 1: 387A>G (P129P) at exon 4; SNP 2: IVS4+33G>A at intron 4; SNP 3: IVS5-72G>A at intron 5; SNP 4: IVS9-13C>G at intron 9; SNP 5: IVS10-88C>T at intron 10; SNP 6: IVS10-80G>A at intron 10; SNP 7: IVS11-34T>C at intron 11; SNP 8: IVS11-33G>T at intron 11; SNP 9: 1455T>C (A485A) at exon 12; and SNP 10: 1508C>T (A503V) at exon 12.

The order of mutations and SNPs is: 5'-G5G-SNP1-SNP2-SNP3-SNP4-SNP5-SNP6-I444fsX449-R457H-SNP7-SNP8-SNP9-SNP10-Y578C-L612-W620delinsR-3'.

## POR遺伝子解析

### (1) 遺伝子変異解析

POR遺伝子の全15エクソンを直接シーケンスで解析し、表1に示す変異を同定した。変異の種類はミスセンス変異が2個、24塩基の欠失変異が1個、1塩基の挿入変異が1個、サイレント塩基置換が1個で、R457H変異がもっとも高頻度であった。4家系6例は複合ヘテロ接合体、3例はR457Hホモ接合体で、残る1例では1アレルに変異が同定されなかった。全例において少なくとも1つのアレルにミスセンス変異が存在した。変異は、すべてサブクローニングで確認された。

これらの変異PORは、機能喪失変異と推測される。R457Hは、すでに機能低下変異であることが報告され、L612\_W620delinsR, I444fsX449, Y578Cは、3次元蛋白構造解析により、明瞭な蛋白立体構造変化を招くことが示され、サイレントG5G変異は、exonic splicing enhancer motifに影響しうることが判明した。以上の成績は、外陰部異常症・ステロイド合成障害を伴うABSが、PORの機能低下変異に起因する常染色体劣性疾患であることを示す。

### (2) SNP解析

各変異が特定のハプロタイプに連鎖するかどうかを検討するために、POR遺伝子上の10個のSNP解析を行った(表1)。その結果、R457HがA-G-G-C-C-G-T-G-T-Cのハプロタイプに連鎖していることが判明した。これは、R457Hが創始者効果のために日本人で高頻度に存在することを示す。

## 臨床像とその成因

### (1) 骨病変

POR変異陽性患者は、さまざまな程度の患者頭蓋骨早期融合、上腕骨橈骨融合、多発指趾間接拘縮を呈する(図1A)。この骨病変の程度は、R457Hのホモ接合体において軽度であることから、POR残存活性に相関すると考えられる。また、同一患者における罹患部位の重症度は類似する。

この骨病変は、コレステロール産生に関与するPOR依存性マイクロゾーム酵素であるCYP51A1(およびSQLE)の活性低下で説明される(図2)。事実、

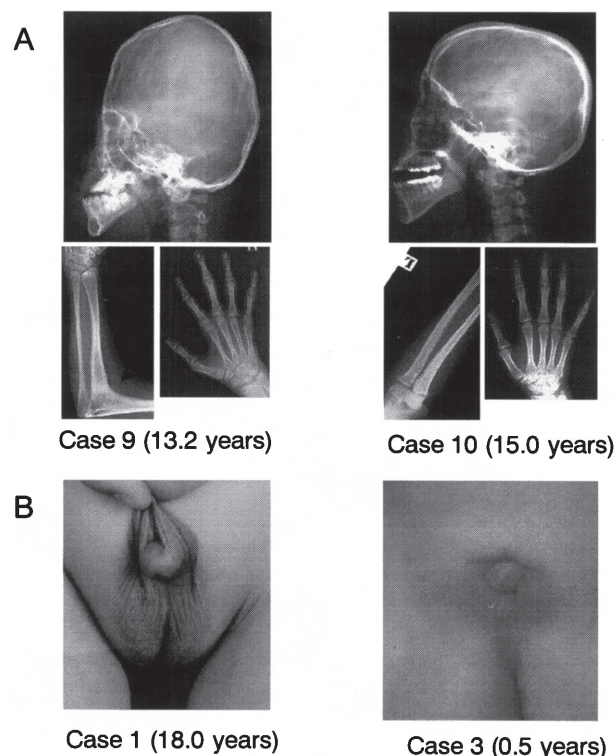


図1 A. 骨病変。重症例(左)と軽症例(右)  
B. 外陰部。男性におけるマイクロペニス、停留精巣、尿道下裂(左)と女兒における陰核肥大と陰唇融合(右)

CYP51A1阻害剤によりABSに一致する骨病変が発症すること、他のコレステロール合成酵素欠損症も骨病変を伴うことが知られている。おそらくコレステロール産生障害によるHedgehogシグナル伝達障害が骨病変を惹起すると考えられる。なお、POR患者の血清コレステロールはほぼ正常範囲内であるが、これは、血清コレステロールが多くの子の影響を受けるためと考えられる。事実、他のコレステロール産生障害疾患において、正常血清コレステロール下において細胞内コレステロール欠乏が存在することが報告されている。

### (2) 副腎・生殖器病変

POR変異陽性患者は、ステロイド合成障害を伴う(図2)。患者の内分泌検査ではCYP21A2とCYP17A1(特に17,20 lyase)の複合型障害が認められ、これは、CYP21A2とCYP17A1がPOR依存性酵素であることに一致する。また、CYP19A1(aromatase)もPOR依存性酵素であるため、思春期年齢ではCYP19A1の機能低下

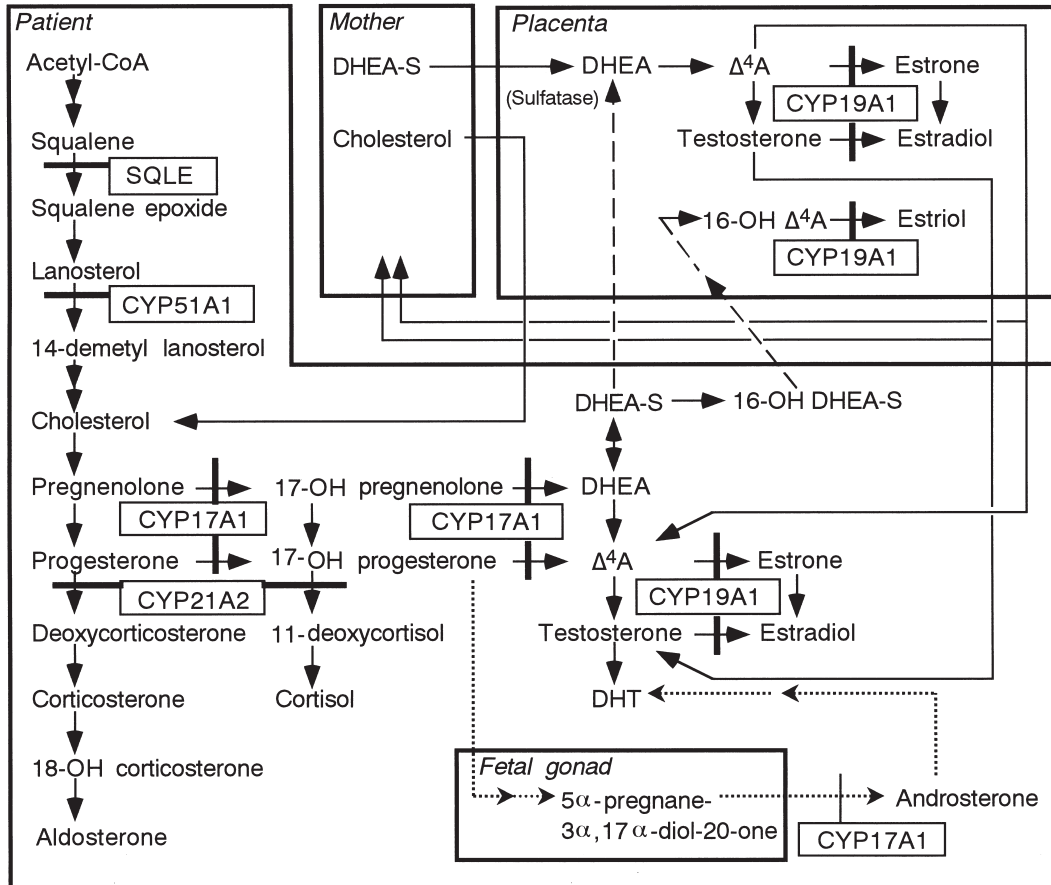


図2 POR異常症におけるコレステロールおよびステロイド産生異常

が明らかとなる。さらに、妊娠中では胎盤CYP19A1の活性低下により過剰アンドロゲンの胎児および母体への流入を招く（なお、tammer wallabyでは胎児性腺における男性ホルモン産生が存在するが、この経路はヒトでは判然としない）。

副腎病変は、3例における感染症罹患時の副腎不全発症として出現し、1例は死亡した。これはCYP21A2とCYP17A1活性低下で説明される。通常生活では副腎不全症状は存在しないが、ストレス時では副腎ステロイドの補充が必要と推測される。

男性の性分化異常症は、3例における生下時の外陰部形成異常および思春期の二次性徴出現不全として出現した（図1B）。これは、胎児期および思春期のCYP17A1活性低下によるアンドロゲン産生低下で説明される。生下時の外陰部形成異常が軽度であった理由として、胎盤

由来のアンドロゲンによる補完的効果が推測される。なお、1例において男性性分化は思春期においても正常であったが、その理由は判然としない。

女性の性分化異常症は、6例全例における生下時の男性化と、思春期における男性化の進行を伴わない二次性徴出現不全として出現した（図1B）。生下時の男性化は、胎盤由来の男性ホルモンで説明される（なお、妊娠中の母体男性化も5例において認められ、これも胎盤由来の男性ホルモンで説明される）。全例が男性化したことは、胎盤で産生されるエストロゲンが大量であることから、CYP19A1活性低下による男性ホルモン過剰も重度であると仮定することで説明される。思春期の症状は、CYP17A1とCYP19A1活性低下によるアンドロゲンとエストロゲンの両者の欠乏で説明される。

## おわりに

以上、男女共通の性分化異常を招く新規遺伝子疾患であるP450 oxidoreductase遺伝子異常症について述べた。性分化異常症を招く責任遺伝子は多数存在すると推測され、未だクローニングされていないものも多い。この領域における今後の進展が期待される。

## 文献

Fukami M et al.: POR (P450 Oxidoreductase) mutations and Antley-Bixler syndrome with abnormal genitalia and/or impaired steroidogenesis: Molecular and clinical studies in 10 patients. *J Clin Endocrinol Metab* (in press).