

# 低ゴナドトロピン性性腺機能不全： 分子遺伝学のおよび臨床的側面

緒方 勤<sup>1)</sup>，田中 敏章<sup>2)</sup>

国立成育医療センター

1) 小児思春期発育研究部

2) 臨床検査部

## はじめに

低ゴナドトロピン性性腺機能不全は、生殖障害をきたす代表的疾患であるのみならず、ゴナドトロピン治療という原因療法が可能な疾患である。本稿では、低ゴナドトロピン性性腺機能不全の遺伝的成因と小児期発症の男性低ゴナドトロピン性性腺機能不全の治療効果について概説したい。

## 遺伝的成因

低ゴナドトロピン性性腺機能不全は、単独型ゴナドトロピン分泌不全と複合型ゴナドトロピン分泌不全に分類される。前者は、さらに、LH/FSHの分泌低下と、LHあるいはFSH単独の分泌低下に大別される。そして、単独型と複合型ゴナドトロピン分泌不全は、共に、下垂体ホルモン分泌低下のみを呈する疾患と他の合併症状を伴う疾患から成る。

近年の分子遺伝学の進歩により、これらすべての疾患群において、多くの責任遺伝子が同定されている。ここでは、合併症のない単独型LH/FSH分泌不全、Kallmann症候群、およびわれわれが経験したDHC7とSOX2異常症について述べる。

### 1) 単独型LH/FSH分泌不全（合併症なし）

ゴナドトロピン分泌不全のみを呈する疾患であり、ヒトでは、現在2つの遺伝子変異が知られている。

#### GNRHR遺伝子

GnRH受容体の遺伝子で、常染色体劣性の単独型LH/FSH分泌不全をきたす [1]。現在までにミスセンス変

異を主とする19種類の変異が報告されている。その頻度は、合併症のない単独型ゴナドトロピン欠損症患者の20%を占めると推測される。変異陽性患者のゴナドトロピン分泌パターンは完全欠損から軽度の異常までさまざまであり、これは主に残存活性を反映すると考えられる。なお、GnRHの構造遺伝子の変異は、マウスでは自然発症例で知られているが、ヒトにおける報告はない。

#### GPR54遺伝子

G-protein coupled receptor 54は、単独型LH/FSH分泌不全 (idiopathic hypogonadotropic hypogonadism: IHH) 家系におけるhomozygosity mappingおよびその後の変異解析により同定された常染色体劣性のIHH責任遺伝子である [2]。現在までにミスセンス変異を主とする4種類の変異が報告されている。その頻度は、合併症のない単独型ゴナドトロピン欠損症患者の5~10%を占めるにすぎないと推測される。そのリガンドであるKISS1は思春期に増加し、そのコアモチーフの投与はGnRH反応を惹起する。また、Gpr54ノックアウトマウスはIHHを呈し、外因性のゴナドトロピンおよびGnRHに反応する。したがって、GPR54は思春期出現の調節因子と見なされている。

### 2) Kallmann症候群 (KS)

単独型LH/FSH分泌不全と嗅覚異常を中核症状とする先天性疾患である。X染色体劣性遺伝、常染色体優性、常染色体劣性の遺伝形式が知られている [3]。発症頻度は、出生男子の1万人に1人、出生女子の5万人に1人とされている。ゴナドトロピン分泌障害の程度はさまざままで、とくに、後述するFGFR1機能低下変異に起因するKSでは、典型的なKS患者から嗅覚脱失のみを有する変異陽性患者まで、幅広い臨床像が報告されている。嗅覚障害の程度も、嗅覚脱失からほぼ正常嗅覚までさまざまである。後述するKAL1変異陽性KSにおいて、われわれは、正常嗅覚を示す変異陽性患者を見出ししている (図1)。KSにみられる随伴症状は表1に示すとおりで

連絡先：緒方 勤，国立成育医療センター小児思春期発育研究部

〒157-8555 東京都世田谷区大蔵2-10-1

TEL：03-5494-7025

FAX：03-5494-7026

E-mail：tomogata@nch.go.jp

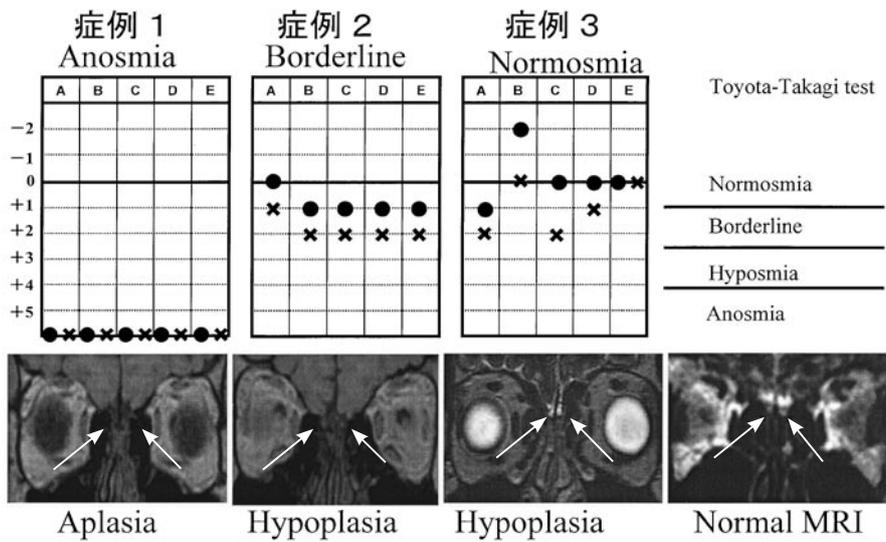


図1 KAL1陽性者3例と正常者における嗅覚機能検査  
 症例1, 2例は, R631X変異を有する兄弟例, 症例3はイントロン4のスプライス変異を有する散発例, 症例4は正常対照例である.  
 上段: T&Tテストによるオルファクトグラム  
 オルファクトグラムとは, 定量的に嗅覚機能を測定する方法で, 試薬の濃度を段階的・対数的に増やしていき, 臭いを検出できた濃度の平均値を算出する方法である.  
 A: パラの花の香り B: カラメル香り C: 腐敗臭 D: 桃缶詰の香り E: 野菜ゴミ臭  
 丸印(●)は, 検知閾値, ×印(×)は, 認知閾値を示す. 症例1は重度な嗅覚障害, 症例2は境界レベルの嗅覚, 症例3は正常嗅覚を示す.  
 下段: 嗅球MRI  
 嗅球は, 症例1において無形成, 症例2において軽度低形成, 症例3において重度低形成をしめす.

表1 Kallmann症候群の責任遺伝子間における随伴症状の比較  
 (文献4より引用・再編)

	KAL1	FGFR1
遺伝形式	X染色体劣性遺伝	常染色体優性遺伝
孤発例	稀	高頻度
責任遺伝子(遺伝子局在)	KAL1 (Xp22.3)	FGFR1 (8p12)
蛋白	Anosmin-1	FGF receptor 1
随伴症状		
鏡像不随運動	あり(白人の75%に合併)	あり
片腎欠損	あり(症例の約30%)	報告なし
口蓋裂/口唇裂	なし	あり
歯牙欠損	報告なし	あり
感音性難聴	あり	あり

ある. KAL1変異とFGFR1変異に共通する症状として鏡像不随運動や感音性難聴が挙げられ, KAL1変異に特徴的な症状として腎形成異常が, FGFR1変異に特徴的な症状として口蓋裂や歯牙欠損が報告されている.

KAL1遺伝子

Xp22.3 (X染色体短腕末端) に存在するX染色体劣性形式のKS責任遺伝子である [4,5]. 14個のエクソンから構成され, Anosmin-1とよばれる蛋白をコードする(図2). Anosmin-1は, 細胞外マトリックスに存在する約95-kDaの糖タンパクで, 胎生期の器官形成期に, 嗅球,

前脳, 腎臓などのさまざまな臓器で発現する. そのN末端側には, 高度に保存されたwhey acidic protein(WAP)-like four disulfide-coreを含む cystein rich region が, C末端側2/3の領域には, 4つのfibronectin III repeats と histidine-rich C-terminal fragment が存在する. Anosmin-1は, GnRH神経細胞の遊走や軸索の伸張に関与し, heparan sulfate glycosaminoglycansと結合し, FGF signalingを活性化する.

KAL1機能低下・喪失変異は, 白人では, 孤発例の約15%, 家族例の約50~60%を占めると報告されているが,

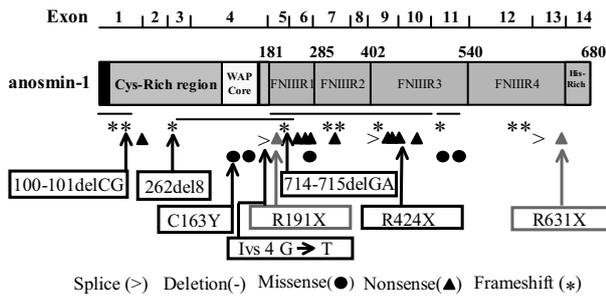


図2 KAL1 (Anosmin-1) 蛋白の構造とKAL1遺伝子変異われわれが同定した変異は四角で囲んである。

日本人では家族例の100%，孤発例の約30%を占め，白人に比し，高い頻度を示した [6]。遺伝子変異は，一部欠損，点変異，スプライスサイト変異などさまざま，エクソン2と14を除くすべてのエクソンに広く分布し，ホットスポットはみられない (図2)。なお，解析された母親は，少なくともわれわれのデータでは全例保因者であり，これはde novo変異が少ないことを示唆する。

#### FGFR1遺伝子

8p21-22に存在する常染色体優性KSの責任遺伝子の1つである [7]。18個のエクソンから構成され，FGFR1蛋白をコードする (図3)。FGFR1蛋白は，細胞膜外において，3つのimmunoglobulin like domainとacidic domainを，細胞膜内において，2つのtyrosine-kinase domainを伴い，二量体を形成してFGF signalingを活性化する。この2量体の形成には，FGFR1蛋白，FGFRリガンド，HpGそしてAnosmin-1の関与が必須となる。また，FGFR1ノックアウトマウスにおいて，嗅原基の形成不全が報告されている。

FGFR1機能低下・喪失変異変異は，Dodeらの報告では，孤発例，家族例の約10%であり，とくに孤発例に多いとされているが，われわれのデータでは，すべて家族例に同定されている [6, 8]。FGFR1変異は，スプライスサイトを含むエクソン3から18の間に，広く分布し，ホットスポットはみられない (図3)。FGFR1変異の症状は，女性において男性よりも軽度である傾向がみられる。その原因の1つとして，X染色体短腕末端の存在するKAL1遺伝子が部分的にX染色体の不活化を受けないため [4, 5]，標的組織においてanosmin蛋白量が女性において男性よりも高いことが挙げられる。さらに，われわれは典型的なKSの中核症状と歯牙欠損を有する息子と，嗅覚脱失と歯牙欠損を有する妊孕性陽性の母親を経験した [9]。この母子において，FGFR1変異は，

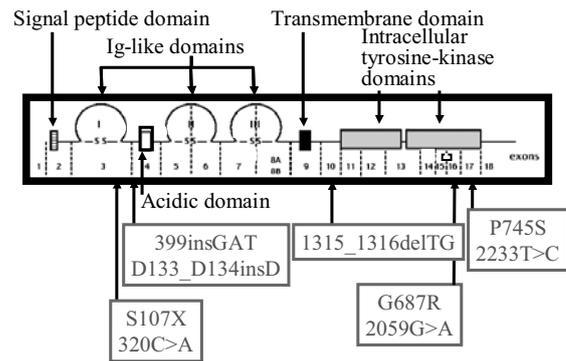


図3 FGFR1蛋白の構造とFGFR1遺伝子変異われわれが同定した変異は四角で囲んである。

児では通常の解析により白血球ゲノムDNAで認められたが，母親では変異アリルを選択的に増幅する方法を用いて爪ゲノムDNAのみで検出された。これは，FGFR1変異が母親において体細胞変異として発症し，それが生殖細胞を巻き込んでいるために児に生殖細胞変異として伝達されたことを示唆する。

#### 3) CHARGE症候群 (DHC7異常症)

DHC7は，CHARGE症候群 (coloboma, heart disease, atresia choanae, retarded growth and/or development, genital anomalies, and ear abnormalities) の責任遺伝子として同定された [10]。その後，患者の多くがKS表現型を呈することが報告された [11]。われわれは，14歳の典型的なCHARGE症候群患者において，KSに特徴的なゴナドトロピン分泌不全と嗅球低形成 (および嗅覚低下) を見出し，DHC7遺伝子のヘテロのナンセンス変異を同定した (投稿中)。DHC7遺伝子は，マウスにおいて臭上皮で発現していることから，嗅脳形成およびそれに伴うGnRH neuron, olfactory neuronの形成に関与すると推測される。

#### 4) 無眼球症 (SOX2異常症)

SOX2は，無眼球症の責任遺伝子として同定された [12]。われわれは，片側性の無眼球症を有する成人女性において，ゴナドトロピン分泌不全とSOX2のヘテロのミスセンス変異を同定した。さらに，この変異が機能低下変異であること，SOX2が視床下部一下垂体において発現していることを見出した (投稿中)。SOX2はパートナー因子とともに遺伝子のエンハンサーに作用して，転写活性亢進作用を発揮することから，ゴナドトロピン分泌経路遺伝子の転写活性に関与すると推測される。

## 5) その他

その他, DAX1, Leptinおよびその受容体遺伝子などの変異が, 低ゴナドトロピン性性腺機能障害患者において同定されている。なお, SF1ノックアウトマウスも低ゴナドトロピン性性腺機能障害を呈するが, ヒトのSF1変異はヘテロ異常症としてのみ同定され, この場合, 性腺異形成の影響のため, むしろ高ゴナドトロピン血症を呈する [13]。すなわち, SF1ヘテロ変異は性腺異形成などの組織発生障害を生じるが, ホルモン産生はホモの異常のときに初めて生じると推測される。

## 臨床的側面

### 1) 低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の診断

ゴナドトロピン分泌不全症の診断の手引き (平成13年度間脳下垂体機能障害調査研究班) を表2に示す。症状としては, 先天性は男子の場合は生下時から矮小陰茎, 矮小精巣などを示すことがあるが, 女子は思春期年齢までは無症状である。Kallmann症候群は無 (低) 嗅覚症が手がかりとなる。通常は思春期年齢を過ぎても二次性徴が発来しないことで精査される。正常の二次性徴の出現年齢は, 男子で精巣の発育が10~14歳, 陰毛の出現が11~15歳, 変声や髭・腋毛の出現が12~16歳である。女子では乳房の発育が8~12歳, 陰毛の出現が9~14歳, 初経が10~14.5歳である。女子で13歳以降, 男子で15歳以降になっても二次性徴が認められなければ精査の必要がある。

男子の精巣機能検査はhCGテストを行う [14]。hCG3,000~4,000U/m<sup>2</sup>を24時間ごとに3回注射して, 投与前と3回目投与の24時間後の血中テストステロンを測

定する。そのときのテストステロン値が150~180ng/dl以上であれば, 正常と判定する。しかし, 低ゴナドトロピン性性腺機能低下症でも二次性に精巣機能が障害されていることが多いので, hCGテストでは中枢性と原発性の鑑別はできない。

原発性性腺機能低下症と中枢性の低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の鑑別は, LH-RHテストで容易である。原発性の場合, 性ホルモン (テストステロン, エストラジオール) が感度以下で, ゴナドトロピン (とくにfollicle-stimulating hormone; FSH) が基礎値から異常高値を示し, LH-RHテストに対する反応も過大反応を示す。低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の場合は, 性ホルモン (テストステロン, エストラジオール) が感度以下で, LH-RHテストでゴナドトロピンが低反応を示し, 男性ではHCGテストでも低反応を示すことで診断される。

低ゴナドトロピン性性腺機能低下症と思春期遅発症の鑑別が困難な場合があり, LH-RHテストとHCGテストが鑑別に有用であるが [15, 16], 最終的には思春期年齢でLHRHテストをくり返し, 経過をみる必要がある。

### 2) 男性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の治療

男子における思春期は, 二次性徴の成熟だけでなく, 生殖能力の獲得 (精子形成) の時期であり, かつ思春期の成長のスパートを経て成人身長を獲得する時期でもある。したがって, 可能な限り, これらの生理的な二次性徴の成熟をなぞらえた治療を行うことが望ましいが, まだその方法は確立していない。また, 妊孕性獲得のための絶対確実な方法も, まだ確立していない。

二次性徴の発現・成熟だけならば性ステロイド療法で

表2 ゴナドトロピン分泌低下症の診断の手引き (平成13年度)

I. 主症候	
1)	二次性徴の欠如 (男子15歳以上, 女子13歳以上) または二次性徴の進行停止。
2)	月経異常 (無月経, 無排卵周期症, 希発月経など)
3)	性欲低下, インポテンス, 不妊
4)	陰毛・腋毛の脱落, 性器萎縮, 乳房萎縮
5)	小陰茎, 停留精巣, 尿道下裂, 無嗅症 (Kallmann症候群) を伴うことがある。
II. 検査所見	
1)	血中ゴナドトロピンは高値ではない。
2)	ゴナドトロピン分泌刺激試験 (LHRH, clomifene, estrogen負荷等) に対して, 低ないし無反応。但し, 視床下部性の場合には, LHRHの1回または連続投与で正常反応を示すことがある。
3)	血中, 尿中性ステロイドホルモン (estrogen, progesterone, testosteroneなど) の低値。
4)	ゴナドトロピン負荷に対して性ホルモン分泌反応がある。
III. 除外規定	
ゴナドトロピン分泌を低下させる薬剤の投与や, 高度肥満・神経性食欲不振症を除く。	
[診断の基準]	
確実例 Iの1項目以上とIIの全項目を満たす。	

可能であるが、妊孕性の獲得のためには、LHRH間欠皮下注射療法かhCG-hMG/FSH療法を行わなければならない。しかし、LHRH療法は、下垂体が正常でなくては行えないので、視床下部性の性腺機能低下症にのみ有効であるが、視床下部性であっても下垂体が二次性の廃用性萎縮に陥っている場合や、治療経過中に反応性が低下する場合もある。また治療手技としては煩雑で、あまり実用的ではなく治療成績も芳しくない。したがって、臨床的には妊孕性の獲得のためにはhCG-hMG/FSH療法が行われる [17, 18]。ゴナドトロピン分泌不全症で、早期の二次性徴の発現のためには、テストステロン療法の効果が優れている。テストステロン療法によって二次性徴を発現・成熟させてから、挙児の希望があったときにhCG-hMG/FSH療法に切り替える方法がとられる。しかし、テストステロン療法でhCG-hMG/FSH療法に対する精巣の反応性が低下する可能性もあり、まだ確立した方法とはいえない [19]。また、性腺機能低下症の男性が、自分に生殖能力があることを確認することで女性とのつきあいに積極性が出ることもある。ゴナドトロピン分泌不全症で妊孕性を重視する場合には、われわれは最初からhCG-hMG/FSH療法を行っている。

#### (1) 男子低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の治療における注意点

小児期発症の性腺機能低下症の治療は、二次性徴の成熟だけでなく、思春期の伸びおよび成人身長への到達を考慮した治療が必要である。性腺補充療法により一過性に成長促進効果が得られるが、骨端線を閉鎖させるので一定期間の後には成長が停止する。

通常思春期開始時（男子の平均は11.5歳）に開始できれば理想的だが、テストステロン筋注療法、hCG-hMG/FSH療法などの性腺補充療法は、一般的には急速な二次性徴の成熟を促す。二次性徴の成熟は骨年齢の成熟も促し、骨端線を閉鎖させるので一定期間の後には成長が停止する。あまりに早期の骨端線の成熟は成人身長が低く終わってしまうこともあるので、性腺補充療法を開始してから成長が停止するまでを予測しながら治療を行うことが必要である。性腺補充療法を開始してからどれだけ伸びるかは、性腺補充療法の開始時の骨年齢による。まだデータの蓄積が少ないが、Growth Potential法での予測が有用である [20]。年齢が高くなって十分な身長に達していないときは、われわれはジヒドロテストステロン軟膏やテストステロン軟膏などを用いて外性器の成熟を図り、また場合によっては蛋白同化ステロイドを用いて成長率の改善を図る。これらの治療は、骨年

齢をあまり促進せず、成長を促す。

#### (2) 男性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の治療の実際

図4は、14歳6ヵ月で受診したKallmann症候群男子の1例で、身長は145cm前後であったが、骨年齢は13歳であった。急速な性腺補充療法では、成人身長が160cmに達しないと考えられた。患児は165cm以上の成人身長を希望したため、了解を得たうえで、まずジヒドロテストステロン軟膏で陰茎・陰毛の発育を促した。約1年3ヵ月後、成長率が落ちてきたため蛋白同化ホルモン（プリモボラン 10mg、就寝前1回投与）を投与して6cm/年まで成長率は改善した。この間骨年齢は半年ぐらいいしか進まず、17歳160cmになってからhCG-hMG治療（hCG 1000 IU、hMG 75IUを週1回注射）を開始した。その後hCGを3000 IUまで増量したが、週1回の治療を継続し、20歳6ヵ月時点で身長168.3cm、精巣容量12~15ml、陰茎・陰毛Tanner 5度である。

わが国において、2006年にやっと男性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症にFSH製剤が認可された。そのリコンビナントFSH製剤（ゴナールエフ<sup>®</sup>）によるわが国に

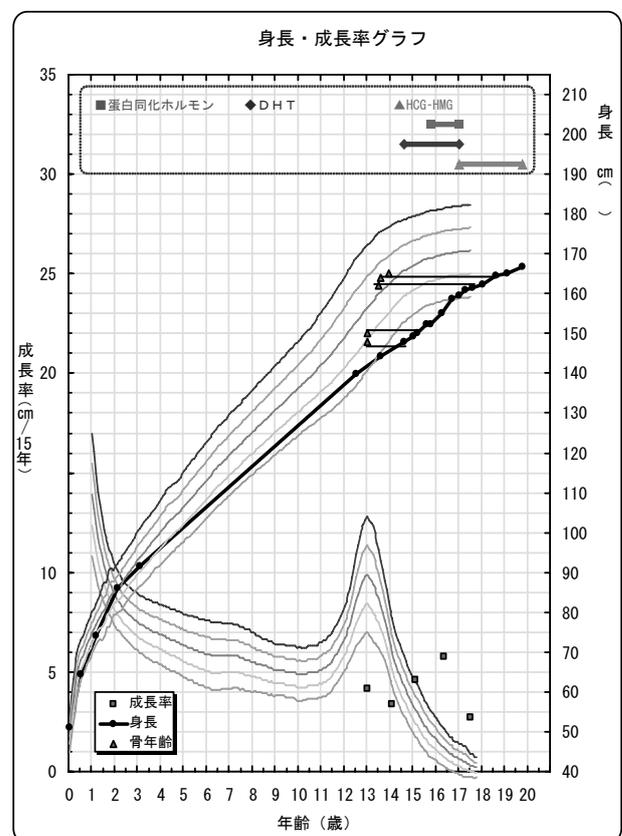


図4 Kallmann症候群男性患者における治療反応

おける治験では、16～55歳の男性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症22例において治療が開始された。前処置として、hCG（プロファシー®）を1000～5000IU、週2～3回12～24週投与した。18例がその後のrFSH 150IU週3回の併用療法を受けた。平均精巣容量は、前処理期間終了時5mlが、併用療法72週時には11.4mlまで増大していた。併用療法中に、17例において $1.5 \times 10^5$ /ml以上の精子形成が認められた。最大精子濃度が $20 \times 10^5$ /mlを越えた症例は7例認められた。また妊娠を希望していた7例のうち2例に、妊娠が確認された。

### (3) 今後の検討課題

hCG-hMG/FSH療法で効果があり造精機能が確認されても、すぐには挙児の希望がないときに、より簡便なテストステロンのデポ製剤の筋注療法に切り替えると、後にhCG-hMG/FSH療法を再開しても精子造成能が十分に回復しないともいわれている [19]。そのため、われわれは、hCG-hMG/FSH療法で、精子形成をみたら、週1回の投与にかえて維持し、挙児希望のときにまた、回数を増やす方法をとっている。

性腺機能低下症では、思春期における骨密度の獲得が少ないと報告されているが、今後、治療法と骨密度の検討も必要であろう。

### 参考文献

- Layman LC et al (1998) Mutations in gonadotropin-releasing hormone receptor gene cause hypogonadotropic hypogonadism. *Nat Genet* 18, 14-5.
- Seminara SB et al (2003) The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 349, 1614-1627
- Dodé C, Hardelin JP (2004) Kallmann syndrome : fibroblast growth factor signaling insufficiency? *J Mol Med* 82, 725-734.
- Legouis R et al (1991) The candidate gene for the X-linked Kallmann syndrome encodes a protein related to adhesion molecules. *Cell* 67, 423-435.
- Franco B et al (1991) A gene deleted in Kallmann's syndrome shares homology with neural cell adhesion and axonal path-finding molecules. *Nature* 353, 529-536.
- Sato N et al (2004) Clinical assessment and mutation analysis of Kallmann syndrome 1 (KAL1) and fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1, or KAL2) in five families and 18 sporadic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 89, 1079-1088.
- Dodé C et al (2003) Loss-of-function mutations in FGFR1 cause autosomal dominant Kallmann syndrome. *Nat Genet* 33, 463-465.
- Sato N et al (2005) Gonadotrophin therapy in Kallmann syndrome caused by heterozygous mutations of the gene for fibroblast growth factor receptor 1 : report of three families : case report. *Hum Reprod* 20, 2173-8.
- Sato N et al (2006) Kallmann syndrome : Somatic and germline mutations of fibroblast growth factor receptor 1 gene in a mother and the son. *J Clin Endocrinol Metab* 91, 1415-1518.
- Vissers LE et al (2004) Mutations in a new member of the chromodomain gene family cause CHARGE syndrome. *Nat Genet* 36, 955-957.
- Pinto G et al (2005) CHARGE syndrome includes hypogonadotropic hypogonadism and abnormal olfactory bulb development. *J Clin Endocrinol Metab* 90, 5621-5626.
- Fantes J et al (2003) Mutations in SOX2 cause anophthalmia. *Nat Genet* 33, 440-442.
- Hasegawa T et al (2004) Testicular dysgenesis without adrenal insufficiency in a 46,XY patient with a heterozygous inactive mutation of steroidogenic factor-1. *J Clin Endocrinol Metab* 89, 5930-5935.
- 田中敏章, 他 (1978) 血中testosteroneを指標とした男児におけるHCGテストの検討. *日本内分泌学会雑誌* 54, 131-142.
- Sato N et al (2003) The usefulness of GnRH and hCG testing for the differential diagnosis of delayed puberty and hypogonadotropic hypogonadism in prepubertal boys. *Jpn J Reprod Endocrinol* 8, 49-53.
- Tanaka T et al (1992) Predictability of sexual maturation by human chorionic gonadotropin test and gonadotropin-releasing hormone test in prepubertal boys with idiopathic growth hormone deficiency; An attempt to diagnose combined gonadotropin deficiency before puberty. *Clin Pediatr Endocrinol* 1, 21-25.
- Tanaka T et al (1992) Combined human chorionic gonadotropin and human menopausal gonadotropin treatment in gonadotropin-deficient males with pituitary dwarfism. *Acta Paediatr Jpn* 34, 243-250.
- 日比逸郎, 他 (1994) 低ゴナドトロピン性男子性腺不全症に対する精製FSH/hCG併用治療による臨床成績. *薬理と治療* 22, 393-406.
- Anderson RA et al (2002) Suppression of spermatogenesis by etonogestrel implants with depot testosterone : potential for long-acting male contraception. *J Clin Endocrinol Metab* 87, 3640-3649.
- 佐藤真理, 他 (1998) Growth potential法による低身長小児における最終身長の予測. *日本小児科学会雑誌* 102, 1271-1276.