

(書式12)

氏名	なかお かなこ 中尾 佳奈子
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	2020年3月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	男児外性器皮膚線維芽細胞におけるアンドロゲン標的候補遺伝子の探索
論文審査委員	主査 教授 呉 繁夫 教授 菅原 準一 教授 松原 洋一 教授 青木 洋子

論文内容要旨

テストステロンやジヒドロテストステロン(dihydrotestosterone: DHT)などの男性ホルモン(アンドロゲン)はアンドロゲン受容体(androgen receptor: AR)への結合を介して外性器男性化を促す。ARは核内受容体であり、リガンドとの結合によって細胞質から核内に移行する。そして標的遺伝子のアンドロゲン応答配列(androgen response element: ARE)に結合して転写制御を行う。これまでにヒト外性器におけるアンドロゲン標的遺伝子としてAPODが同定されている。しかし、この遺伝子単独の作用だけでは複雑な外性器の男性化を完全には説明できず、詳細な外性器形成におけるアンドロゲン作用の分子メカニズムは未解明である。本研究は、ヒト外性器におけるアンドロゲン標的候補遺伝子を同定することを目的とした。

AR変異p.Ala597Thrを有する部分型アンドロゲン不応症患児1名および埋没陰茎男児4名(コントロール群)を対象とし、この5名の包皮由来皮膚線維芽細胞を用いてトランスクリプトーム解析を行った。まず各細胞を2つに分け、DHTまたはメタノールを添加して培養した。その後、細胞からmRNAを抽出し、マイクロアレイ解析を行った。コントロール群においてDHT添加によって変動し、かつ、患者における変動がコントロール群よりも小さい遺伝子を抽出した。発現量が著しく低い遺伝子およびシグナルデータの品質が悪い遺伝子は解析対象から除外した。その結果、アンドロゲン標的候補遺伝子として24遺伝子が同定された。7遺伝子が近傍にARE候補配列を有していた。24遺伝子の中には既知アンドロゲン標的遺伝子APOD、マウス外性器原基男性化に関与すると報告されているCYP11B1、他臓器におけるアンドロゲン標的遺伝子として報告のあるRGCCやHS6ST1が含まれていた。コントロール群における24遺伝子のDHT添加によるlog₂発現変動量は0.3-0.7であった。本研究の結果は、アンドロゲンによる外性器男性化の主体が、少数の特定遺伝子の大きな発現変動ではなく多数の遺伝子の微細変化であることを示唆する。

なお本研究で同定された24個のアンドロゲン標的候補遺伝子には、これまでヒト疾患への関連が報告されていないものが多く含まれる。これらの遺伝子の変異は、臨床的にアンドロゲン不応症と診断されるがAR変異が認められない患者における疾患原因となっている可能性がある。また本研究によって得られた知見は、AR異常のためにアンドロゲン補充療法では十分な男性化が認められない患者のために、ARを介さずにアンドロゲン作用を発揮する新規治療薬の開発につながる事が期待される。

審査結果の要旨

博士論文題目 男児外性器皮膚線維芽細胞におけるアンドロゲン標的候補遺伝子の探索.....

所属専攻・分野名 医科学専攻 (連) 次世代小児医療講座分野.....

学籍番号 B7MD5102 氏名 中尾 佳奈子.....

テストステロンやジヒドロテストステロン (dihydrotestosterone : DHT) などの男性ホルモン (アンドロゲン) はアンドロゲン受容体 (androgen receptor : AR) への結合を介して外性器男性化を促す。ARは核内受容体であり、リガンドとの結合によって細胞質から核内に移行する。そして標的遺伝子のアンドロゲン応答配列 (androgen response element : ARE) に結合して転写制御を行う。これまでにヒト外性器におけるアンドロゲン標的遺伝子として APOD が同定されている。しかし、この遺伝子単独の作用だけでは複雑な外性器の男性化を完全には説明できず、詳細な外性器形成におけるアンドロゲン作用の分子メカニズムは未解明である。本研究は、ヒト外性器におけるアンドロゲン標的候補遺伝子を同定することを目的とした。

AR 変異 p.Ala597Thr を有する部分型アンドロゲン不応症患児 1 名および埋没陰茎男児 4 名 (コントロール群) を対象とし、この 5 名の包皮由来皮膚線維芽細胞を用いてトランスクリプトーム解析を行った。まず各細胞を 2 つに分け、DHT またはメタノールを添加して培養した。その後、細胞から mRNA を抽出し、マイクロアレイ解析を行った。コントロール群において DHT 添加によって変動し、かつ、患者における変動がコントロール群よりも小さい遺伝子を抽出した。発現量が著しく低い遺伝子およびシグナルデータの品質が悪い遺伝子は解析対象から除外した。その結果、アンドロゲン標的候補遺伝子として 24 遺伝子が同定された。7 遺伝子が近傍に ARE 候補配列を有していた。24 遺伝子の中には既知アンドロゲン標的遺伝子 APOD、マウス外性器原基男性化に関与すると報告されている CYP11B1、他臓器におけるアンドロゲン標的遺伝子として報告のある RGCC や HS6ST1 が含まれていた。コントロール群における 24 遺伝子の DHT 添加による log₂ 発現変動量は 0.3-0.7 であった。本研究の結果は、アンドロゲンによる外性器男性化の主体が、少数の特定遺伝子の大きな発現変動ではなく多数の遺伝子の微細変化であることを示唆する。

なお本研究で同定された 24 個のアンドロゲン標的候補遺伝子には、これまでヒト疾患への関連が報告されていないものが多く含まれる。これらの遺伝子の変異は、臨床的にアンドロゲン不応症と診断されるが AR 変異が認められない患者における疾患原因となっている可能性がある。また本研究によって得られた知見は、AR 異常のためにアンドロゲン補充療法では十分な男性化が認められない患者のために、AR を介さずにアンドロゲン作用を発揮する新規治療薬の開発につながることを期待される。

よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。