

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

尿道下裂患児とその両親のステロイド代謝に関する研究

分担研究者 小柳知彦 北海道大学大学院医学研究科腎泌尿器外科学教授
研究協力者 野々村克也、柿崎秀宏、村雲雅志
三上篤（札幌市衛生研究所）

研究要旨

当科で経験した尿道下裂6症例とその両親（5家族）について、テストステロン生合成系における異常の有無を調べるため、血清中の3-ヒドロキシステロイド（DHEA, 17-Hydroxypregnenolone, Pregnenolone）、3-ケトステロイド（Androstenedione, 17-Hydroxyprogesterone, Progesterone）を測定して、その比をとることによって代謝酵素の活性を求めた。6症例の尿道下裂の程度は遠位型が2例、近位型が4例であった。遠位型の症例ではとくに合併症や妊娠中の異常を認めなかったのに対し、近位型では停留精巣の合併を1例に認めたほか、兄弟における発症例を含んでおり、この兄弟例ではいずれも妊娠中に切迫早産の既往があった。

遠位型1例と近位型3例（うち2例は兄弟）において3-ヒドロキシステロイド脱水酵素（3-HSD）と17-, 20-リアーゼ活性の単独または両方の低下を認めた。遠位型症例の父親には3-HSDおよび17-, 20-リアーゼ活性の低下が、また近位型兄弟例の母親に17-水酸化酵素と17-, 18-リアーゼ活性の低下が認められた。まだ少ない症例の検討ではあるが、尿道下裂症例にステロイド代謝異常が高頻度で認められ、また代謝異常が家族性に見られることが示唆された。こうした知見は内分泌攪乱物質が尿道下裂の発生に関与する可能性を濃厚に示しており、今後の広汎な検討が必要である。またステロイド代謝産物の測定による疾患の胎児診断・母体への薬物投与による胎児治療などへの応用が期待される。

A. 研究目的

尿道下裂の成因に関しては不明な点が多くさまざまな説が提唱されているが、近年では胎児期の内分泌環境の異常がクローズアップされており、内分泌攪乱物質との関連からも深い関心が持たれている。

われわれは昨年度の研究において、尿道下裂症例では思春期前の段階から刺激に対

するテストステロン分泌の反応性が低下しており、精巣機能障害とくにライディッヒ細胞の機能障害が存在する可能性を指摘したが、その詳細をより明らかにするためにはテストステロン生合成に関与するステロイド代謝酵素の異常を検索する必要があった¹⁾。そこで本年度の研究においてはステロイド代謝経路において重要な中間代謝産

物について測定系を確立し、実際に尿道下裂患児およびその両親についてテストステロン生合成系に問題がないかどうか検索を行った。

B. 研究方法

当科にて2000年7月から2001年2月までに尿道下裂形成術を受けた症例のうち、協力の得られた5組の家族を対象として以下の項目を検討した。

まず臨床的背景として、

- 1) 尿道下裂の程度
- 2) 尿路性器合併異常
- 3) 妊娠・分娩の異常
- 4) 妊娠中の薬物投与
- 5) 家族歴

を調べた。

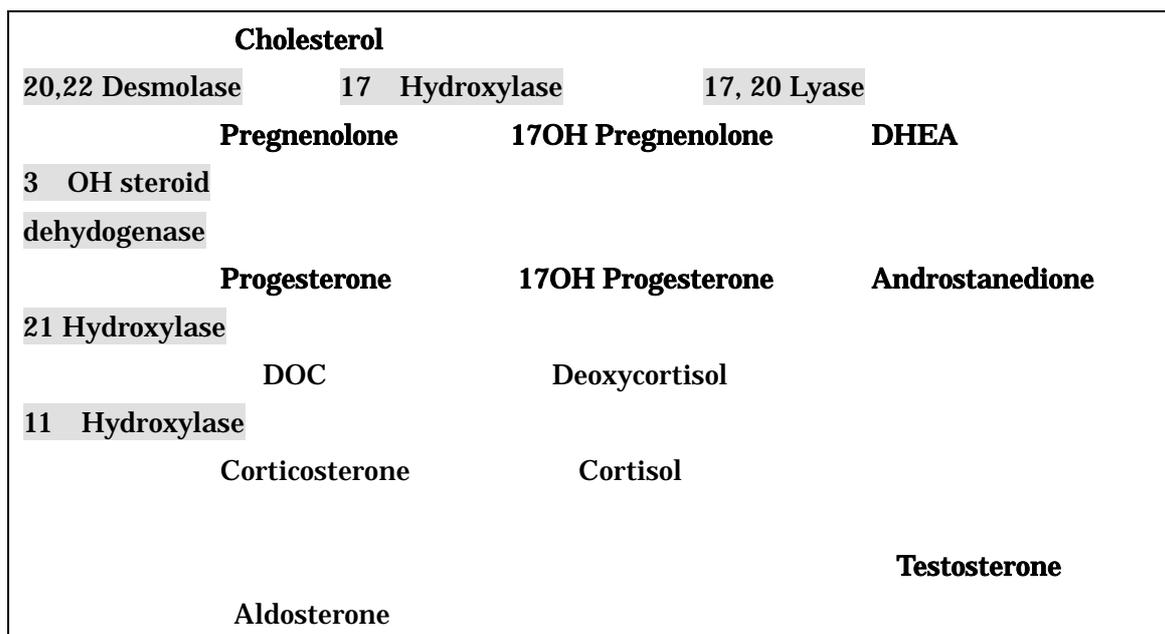
血清中のステロイド代謝産物を測定するために、患児から2ml、両親から3mlの静脈血をヘパリン添加採血管に採取して、すみやかに血清を分離し、-20℃で冷凍保存し

た。測定の対象としたのはヒト副腎におけるテストステロン生合成系(図1)の中間代謝産物である、

- 1) Pregnenolone (Preg.)
- 2) 17-OH Pregnenolone (17-OH Preg.)
- 3) Progesterone (Prog.)
- 4) 17-OH Progesterone (17-OH Prog.)
- 5) DHEA
- 6) Androstenedione (Andro.)

の6種類である。これらの中間産物の中で、前駆物質と生成物質との比を指標として、テストステロン生合成において重要な3つの酵素(3 β -ヒドロキシステロイド脱水酵素(以下3 HSD)、17 α -水酸化酵素(以下17 α -OHase)、17 β -、20-リアーゼ)の活性を推定した。中間代謝産物の分析は液体クロマトグラフィー法で行い、高感度セミマイクロカラム対応システム(資生堂ナノスペースSI-1)を用いた(使用カラムCAPCELL PAK C18UG120S3、35 μ m、流速100 μ l/minで波長254nmにて検出)。

図1. ヒト副腎におけるテストステロン生合成系



(倫理面への配慮)

本研究における検討項目のうち臨床的背景については、尿道下裂に対する手術的治療の方針決定のために必要な臨床情報であることを良く説明し、両親の了解を得てから、詳細な問診と理学的所見の検討、必要に応じて超音波検査や尿路画像診断を行った。またステロイド代謝酵素の測定に関しては、治療に関して必須な検査ではないこと、尿道下裂における代謝異常を検討するための医学的研究目的であること、研究への参加は保護者である両親の自由意志によるものであること、もし研究に参加しない場合でも以後の診療においていかなる不利益を被ることはないことを主治医から十分に説明して、インフォームドコンセントを受けた上で採血・検査を行った。

C. 研究結果

(1) 臨床的背景

本年度中に協力を得られたのは5家族であり、いわゆる遠位型(軽度)が2例、近位型(重度)が4例(うち2例は兄弟例)であった。遠位型の2例については他の合併異常はなく、妊娠・分娩経過も正常で、妊娠中の薬剤使用歴はなく、家族歴にも特記すべきことはなかった。これに対し、近位型では1例に両側停留精巣を合併していた。また兄弟例では妊娠12週および28週において切迫早産の既往があった。

(2) ステロイド代謝産物測定結果

測定結果を図2に示す。*は測定上の精度にやや難がある例であり、以後の解析には用いなかった。

図2 . ステロイド中間代謝産物 . 単位 ng/ml

症例	Preg	Prog	17-OH Preg	17-OH Prog	DHEA	Andro	No.
D.I.	18.77	2.44	*142.19	0.88	*0	*0	1
(母)	1.56	0.38	4.33	*0	1.25	0.63	2
(父)	6.61	0.83	2.42	0.3	1.63	0.48	3
S.M.	18.55	0.51	10.42	1.51	0.41	0.15	4
K.M.	9.79	0.47	2.51	*0	0.93	0.17	5
(母)	15.82	43.47	15.04	3.85	0.82	1.19	6
(父)	*0	0.32	5.79	0.73	1.76	0.87	7
M.T	*0	0.4	4.69	1.56	0.32	*0	8
(父)	4.06	0.62	4.14	0.77	2.14	0.68	9
K.T.	18.61	0.68	14.57	2.04	*0	0.92	10
(母)	7.25	1.09	2.54	0.95	3.17	0.98	11
(父)	10.25	*0	3.25	0.43	3.82	0.98	12
R.M.	*0	1.09	23.94	1.33	0.18	*0	13
(母)	7.16	7.47	5.72	1.29	0.96	0.4	14
(父)	*0	0.55	17.63	1.39	0.34	0.75	15

3 HSD 活性の指標として Preg./Prog., 17-OH Preg./17-OH Prog. DHEA/Andro. の比を求めた(図3,4,5)。17-OHase 活性

の指標には Preg./17-OH Prog., Prog./17-OH Prog. の比を(図6,7)。また17-, 20-リアーゼ活性には 17-OH

Preg./DHEA, 17-OH Prog. /Andro. の比
 (図 8,9) を求めた。

図 3 ~ 5 . 3 ヒドロキシステロイド脱水酵素活性の指標

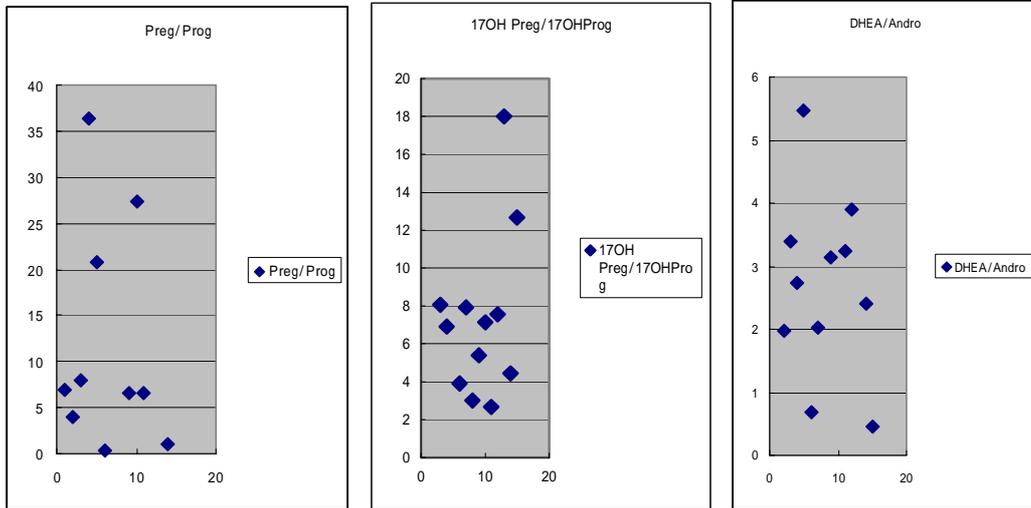
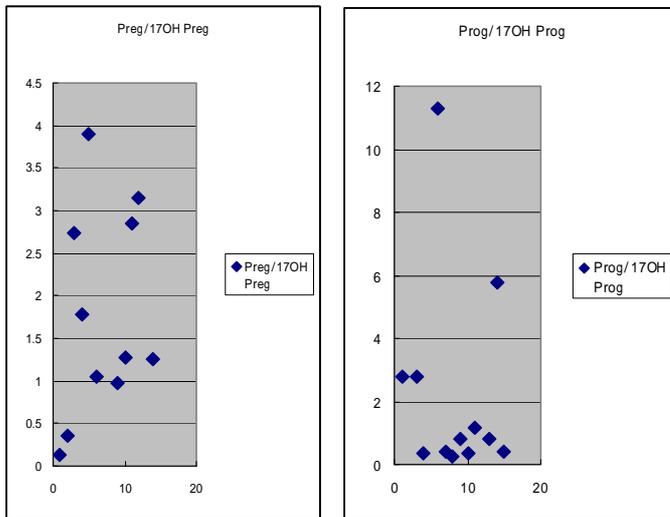


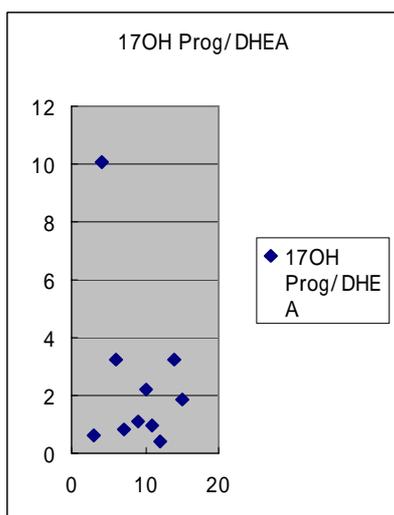
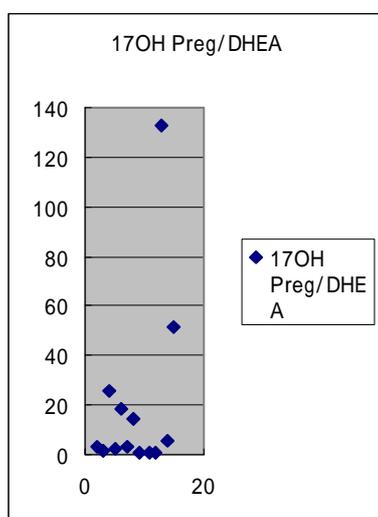
図 6.7 . 17 水酸化酵素活性の指標



酵素活性の異常が疑われた尿道下裂症例は 6 例中 4 例 (遠位型 1 例、近位型 3 例うち 2 例は兄弟) である。近位型の兄弟例では 3 HSD 活性の低下が認められ、弟においては 17-, 20-リアーゼ活性も低下してい

た。さらに母親の 17 OHase、17-, 20-リアーゼ活性も低下していた。また遠位型例では患児・父親ともに 3 HSD と 17-, 20-リアーゼ活性の低下が認められた。

図 8.9 . 17-, 20-リアーゼ活性の指標



D . 考察

尿道下裂には陰嚢内容の異常が高頻度に合併することが知られており、当科で経験した症例においても停留精嚢をはじめ、無精嚢症や精嚢形成不全など明らかなテストステロン分泌障害例が含まれていた。また妊娠中のプロゲステロン投与と尿道下裂との関係は有名であるが、プロゲステロンはステロイド代謝経路において重要な 3 ヒドロキシステロイド脱水素酵素活性を低下

させることが知られている。こうしたことから、尿道下裂の成因として胎児の精嚢機能やステロイド代謝の異常が深く関与することが指摘されてきた。とくに重度の尿道下裂においては、精嚢が正常位置に下降している例でも 5 % 程度の症例でテストステロン生合成異常を伴う場合があることが報告されており^{3, 4)}、ステロイド代謝における何らかの異常が想定されていた。

いっぽう先天性のステロイド代謝異常として臨床的に顕性な先天性副腎過形成では、男児における外性器異常の原因にはなりにくいとされてきたうえ²⁾、ステロイド中間産物の測定系が不安定であったことや、測定のためには比較的大量の血液を必要としたことなどから、尿道下裂とステロイド代謝異常との関係については十分な検討がなされないままとなっていた。

この状況に一石を投じたのは Aaronson⁵⁾ であり、検討した 30 例の尿道下裂のうち実に 15 例 (50%) において、3 ヒドロキシステロイド脱水素酵素・17 水酸化酵素・17, 20 リアーゼの 3 種類の酵素が単独または複合して異常を示したことを報告し、尿道下裂の成因としてのステロイド代謝異常の重要性を具体的に指摘した。

今回の検討では、まだ少数例のみの解析ではあるものの、尿道下裂の患児にステロイド代謝異常が想像以上に多いことがうかがわれ、尿道下裂の成因としての胎児期のテストステロン生合成異常の意義を大きくクローズアップするものである。われわれの昨年度の検討では、思春期前の尿道下裂症例における精嚢機能異常の存在を示したものの、それが胎児期から存在していたものなのか、また尿道下裂の発生に直接関与

するものなのかを解き明かすことはできなかった。しかし軽度の代謝異常のうち多くのものは成長とともに代償されると考えられており、幼児期まで残存する異常は胎児期にも存在したと考えるのが妥当であろう。

先に述べたプロゲステロンのほか、最近では母親が妊娠中に植物性エストロゲンを多く含む食事を摂取すると尿道下裂が発生しやすいとする報告⁹⁾があり注目されている。ただし植物性エストロゲンを多量に摂取する日本での発生頻度が欧米よりも高いわけではない。今後も多角的な疫学調査によって、どのような外因性物質が影響してくるのかを解明していく必要がある。

今回の検討で代謝異常が家族性に認められたのは大変興味深い。従来から尿道下裂の家族発生については日本で6%、欧米で21%とする報告^{6,7)}がある。また尿道下裂患児の次子が尿道下裂である確率は12~17%と報告^{7,8)}されており、尿道下裂症例のうちには明確な遺伝性のあるものが含まれることが想定されてきた。しかしその詳細に関する知見はほとんど報告されていない。今後詳細な解析とくに遺伝子多型の解析を進めることで、尿道下裂の病因についての理解が深まり、また早期診断・早期治療への展望が拓けてくるであろう。

E. 結論

当科で経験した尿道下裂6例とその両親について(計5家族)血清中のステロイド中間代謝産物を測定した。下裂の程度は遠位型(軽症)2例、近位型(重症)が4例であった。遠位型の2例については合併異常などを認めなかった。近位型では1例停留精巣を合併していたほか、兄弟発生例を

認めた。兄弟例においては妊娠中に切迫流産の既往があった。

6例中4例にステロイド代謝酵素活性の異常を認め、3例(2家系)では家族性に異常を認めた。

尿道下裂症例のステロイド代謝を詳細に調査することで、発症のメカニズムの解明のみならず、ステロイド代謝酵素活性の測定による出生前診断や、妊娠中の薬剤投与による胎児治療の可能性につながる事が期待される。

今後の課題

今後より多くの症例についてステロイド代謝異常の有無を確認していく必要がある。尿道下裂発生との因果関係については基礎的な実験が必要であり、内分泌かく乱物質を妊娠ラットに投与することでラット胎児のステロイド代謝異常が生じるかどうかを調べ、尿道下裂の原因となりうるかどうかを追求していく予定である。

F. 研究発表

論文発表

Koyanagi T, Nonomura K, Kakizaki H, Murakumo M: One-stage urethroplasty with paramental foreskin flap (OUPF)-Quest for single-stage repair applicable to all types of hypospadias. *Asian Medical Journal* 43: 517-531, 2000

H. 参考文献

- 1) 小柳知彦、野々村克也、柿崎秀宏、村雲雅志:先天性外陰奇形(尿道下裂)の内分泌環境に関する症例対照研究.平成11年度厚生科学研究費補助金研究報告

- 書 .内分泌かく乱物質の生殖機能と次世代への影響、とくに生殖泌尿器系・先天異常の成因に関する疫学的研究 pp35-42.
- 2) Grumbach MM, Conte FA: Disorders of sexual differentiation. In: Williams Textbook of Endocrinology, 8th ed. Edited by J.D. Wilson and D.W.Foster. Philadelphia: W.B.Saunders Co., chapt. 14, pp. 916-921, 1992
 - 3) Savage MO, Chaussain JL, Evain D et al.: Endocrine studies in male pseudohermaphroditism in childhood and adolescence. Clin Endocr, 8: 219, 1978
 - 4) Campo S, Monteagudo C, Nicolau G et al.: Testicular function in prepubertal male pseudohermaphroditism. Clin Endocr 14:11, 1981
 - 5) Aaronson IA, Cakmak MA, Key LL: Defects of the testosterone biosynthetic pathway in boys with hypospadias. J Urol 157, 1884-1888, 1997
 - 6) 榊原尚行、野々村克也、松野正、他：尿道下裂の臨床、内分泌学的検討 .日泌尿会誌 76: 716-722, 1985
 - 7) Bauer SB, Retik AB, Colodny AH: Genetic aspect of hypospadias. Urol Clin North Am 8: 559-564, 1981
 - 8) Stoll C, Alembik Y, Roth MP et al.: Genetic and environmental factors in hypospadias. J Med Genet 27: 559-563, 1990
 - 9) North K, Golding J, The Alspac Study Team: A maternal vegetarian diet in pregnancy is associated with hypospadias. BJU Int 85: 107-113, 2000