

## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 中村美智子

### 学位論文題名

*MAMLD1/Mamld1* が精巣機能に与える影響

#### 【背景】

*MAMLD1* (Mastermind-like domain containing 1)は、ヒト染色体 Xq28 から単離された尿道下裂の責任遺伝子であり、現在までにナンセンス変異を含む複数の機能喪失変異が尿道下裂患者で同定されている。これまでの研究から、*MAMLD1* は胎児性分化臨界期の精巣におけるテストステロン産生に関与し、その変異はテストステロンの産生量低下を介して尿道下裂を引き起こすと考えられている。しかしながら、*MAMLD1* がどのような機序でテストステロン産生を制御しているかは未解明である。今回は、この機序を解明するため、マウスライディッヒ腫瘍細胞を用いて、*Mamld1* ノックダウン実験を行った。また、テストステロン産生低下は、尿道下裂発症に関わるだけでなく、出生後の性腺機能にも影響する可能性がある。しかし、*MAMLD1* の変異をもつ患児の出生後の性腺機能についての報告もない。今回、*MAMLD1* の変異が同定された尿道下裂患児の、経時的な内分泌学的検査所見を得たので同時に報告する。

#### 【対象と方法】

In vitro 実験では、マウスライディッヒ腫瘍細胞(MLTC-1)において、siRNA を用いて *Mamld1* の発現を一過性に抑制し、1) コレステロールからテストステロンへ至る 8 種類のステロイドホルモン代謝産物濃度、2) 内在性コントロール遺伝子  $\beta$ 2-microglobulin に対する相対的遺伝子発現量、3) MLTC-1 細胞数を測定した。

症例に関しては、*MAMLD1* 変異が認められ、その機能低下が証明されている尿道下裂患児 3 例の、陰莖長、精巣容積、血清 LH/FSH/Testosterone 値、超音波所見などを、変異発見時から数年単位で経時的に測定した。

#### 【結果】

In vitro 実験では、*Mamld1* の発現抑制により、17-ヒドロキシプレグネノロン、17-ヒドロキシprogテストロン、DHEA、アンドロステンジオン、テストステロンが有意に減少し、*Cyp17a1* の mRNA 発現量が有意に低下した。*Mamld1* の発現抑制効果は 3 日目まで続いたが、その間 MLTC-1 の細胞数はコントロールと比べて変わらなかった。

*MAMLD1* 変異をもつ尿道下裂児 3 例は、乳児期から学童期前の時期では、負荷試験を含め、血清のホルモン値は基準範囲内であった。しかし、7 才を過ぎたあたりから、LH/FSH の上昇や、hCG 負荷に対するテストステロンの反応性の低下が認められた。さらに、2 例では精巣の超音波検査において、微小石灰化が認められた。

#### 【結語】

*Mamld1* は、精巣のライディッヒ細胞において、ステロイド合成酵素遺伝子 *Cyp17a1* の発現調節を介し、テストステロン産生に関わっていると考えられる。また、*MAMLD1* は、胎生期の性分化に必要なテストステロンの産生を減少させるだけでなく、出生後の精巣機能にも影響を及ぼすことが示唆される。