

## SRY遺伝子陰性XX雄のフレンチブルドッグの1例

谷 健二<sup>†</sup> 浜地雄大 原口友也 小田康喬 奥田 優  
水野拓也 板本和仁 田浦保穂

山口大学農学部 (〒753-8515 山口市吉田1677-1)

(2010年5月6日受付・2010年9月29日受理)

## 要 約

1歳1カ月齢のフレンチブルドッグが陰部に突出部があるとの主訴で紹介来院した。問診、身体検査、X線検査の結果および性腺摘出を実施したところ、性腺は左右ともに精巣であったことから雄性仮性半陰陽が疑われた。核型は78, XX染色体であり、犬SRY遺伝子は陰性であった。以上のことから、本症例はSRY遺伝子陰性XX雄と診断された。  
——キーワード：性腺，半陰陽，核型。

----- 日獣会誌 64, 61～64 (2011)

生物学的な性別は、性染色体による決定、性腺の分化および形質の発達（外見的な性）の段階を経て、決定される [1]。雄・雌として単純に分類できない状態は間性や半陰陽と呼ばれ、真性半陰陽は両性の性腺を持ち、仮性半陰陽は性腺と外見で性別が異なる状態を指す [1]。ほ乳類のY染色体上には、SRY (Sex-Determining Region Y) 遺伝子が存在し、精巣の形成を規定している [2]。人のXX型男性ではSRY遺伝子が常染色体へ転座しているために起こる、SRY遺伝子陽性XX男性であることが多い [3]。いっぽう、犬ではSRY遺伝子陰性XX型雄だけが報告されているものの [4-8]、半陰陽の原因は多様であり、確定診断に至らないことも多い。今回、われわれは両性腺ともに精巣である半陰陽犬に遭遇し、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) 法を用いて核型検査を実施したところ、染色体上は完全な雌 (78, XX) であることを確定した。さらに犬SRY遺伝子を検索したところ陰性であったことから、SRY遺伝子陰性XX雄と診断する機会を得たので、その概要を報告する。

## 症 例

症例はフレンチブルドッグ、1歳1カ月齢であり、主訴は陰部に突出物があり半陰陽の疑いで精査を目的として山口大学動物医療センターへ紹介来院した。症例の外観は雌であり、外陰部に突出物が視認できた (図1)。

初診時血液検査およびX線検査所見：CBCおよび血

液化学検査では異常所見は認められなかった。X線検査では外陰部の突出部に一致して骨化が認められた。また、第13胸椎は蝶形であったが、関連する臨床症状は認められなかった。

**逆行性尿路造影X線検査所見：**尿道カテーテルは外尿道口から容易に挿入可能であり、逆行性尿路造影を実施したところ、尿路に異常は認められなかった (図2)。

**X線CT検査所見：**性腺の精査のために全身麻酔下でCT検査を実施した。左右腎臓尾側に独立組織が認められ、性腺であると思われた。前立腺様の組織構造物は認められなかった。



図1 症例の外観  
外陰部に突出物が認められる (矢印)

<sup>†</sup> 連絡責任者：谷 健二 (山口大学農学部獣医学科獣医外科学)

〒753-8515 山口市吉田1677-1 ☎・FAX 083-933-5908 E-mail : ktani@yamaguchi-u.ac.jp



図2 逆向性尿路造影  
小さな陰茎骨が認められる (矢印)

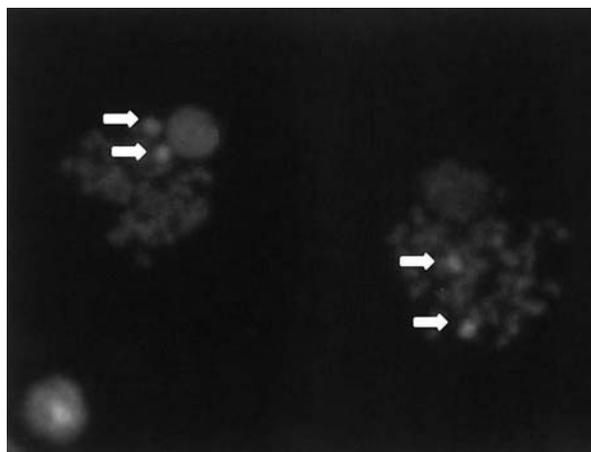


図4 FISH法による犬X染色体の可視化  
症例は細胞当たり1対のX染色体を持つ (矢印)

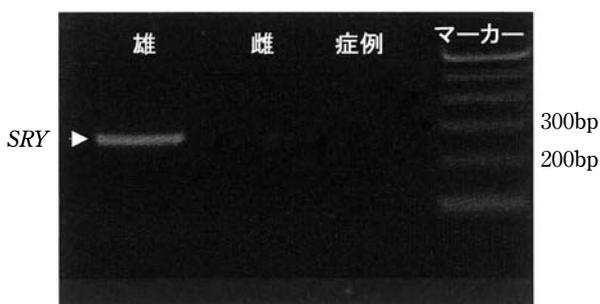


図3 犬SRY遺伝子の検出  
症例は犬SRY遺伝子陰性であった



図5 性腺摘出時の外観  
性腺は左右ともに精巣様で管腔構造物(子宮; 矢印)に連続している

**犬SRY遺伝子の検出：**口腔粘膜拭い液から市販キット(QIAamp DNA Mini Kit, 株式会社キアゲン, 東京)を用いてゲノムDNAを抽出し, 犬SRY遺伝子特異的プライマー対(5'-caagatggctctagagaatccc-3'および5'-agctgtccgtgtagtgta-3', 塩基配列情報はGenbank, accession number AF107021から得た)を用いてPCR検査を実施したところ, 犬SRY遺伝子は陰性であった(図3)。

**核型検査：**核型検査はMikiら[9]の報告に準じて行った。簡述すると, 比重遠心法で末梢血単核球を分離し, コンカナバリン刺激下(最終濃度5 $\mu$ g/ml, 15%牛胎仔血清加RPMI培養液中)で3日間培養した。コルヒチン(最終濃度0.5 $\mu$ g/ml)を添加し4時間後に低張液(75mM KCL)で処理し, メタノール・酢酸(3:1)で固定して, 細胞分裂中期像が豊富な標本作製した。得られた標本をギムザ染色と蛍光*in situ*ハイブリダイゼーション(FISH)検査に供した。ギムザ染色標本では, 100個の細胞分裂像で総染色体数が判明するものの, 各染色体の識別は困難であった。犬X染色体および犬Y染色体特異的プローブ(StarFISH canine X probe, canine Y probe, Cambio, U.K.)を用いてCambio社の推奨プロトコルに従ってX染色体およびY染色体を100

細胞可視化(X染色体は緑色, Y染色体は赤色)した。対照とした雄犬標本では, 細胞当たり1対のX染色体およびY染色体が100細胞すべてで認められたが, 症例ではX染色体のみ2本認められた(図4)ことから, 本症例の核型は78, XXであることを確定した。

**性腺摘出：**第33病日に性腺摘出を目的として, 試験的開腹術を実施したところ, 性腺は精巣様の外観を呈し, 左右子宮様構造物が認められた(図5)。外陰部の突出物は, 炎症などの臨床症状が無かったため温存した。

**組織学的検査所見：**性腺は左右ともに精巣であり, 未熟な曲精細管と豊富な間質細胞から成り, 曲精細管内に精子は認められなかった(図6)。精巣に近接する組織は精巣上体であった。肉眼的に子宮と思われた管腔組織は, 腺構造を呈する成熟した子宮であった。

**確定診断：**本症例は, 未熟な精巣, 精巣上体, 陰茎および陰茎骨を持つ雄性の表現型と成熟した子宮, 膣および外陰を持つ雌性の表現型の両性を呈し, 前立腺や卵巣

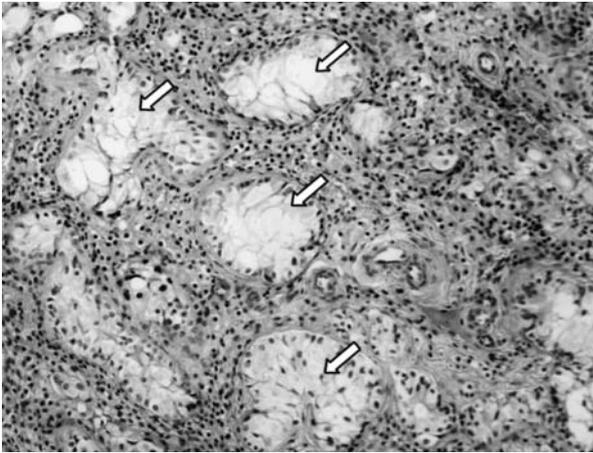


図6 性腺の病理組織所見  
 曲精細管内に精子は認められない(矢印)(HE染色  
 ×100)

を欠く雄性仮性半陰陽犬であった。ギムザ染色標本で観察した染色体数とFISH法による性染色体の識別から、症例の核型は78, XX染色体であり、PCR検査による犬SRY遺伝子は陰性であったことから、本症例はSRY遺伝子陰性XX雄と診断された。

### 考 察

SRY遺伝子陰性半陰陽は、フレンチブルドッグ1例[10]を含む、さまざまな犬種で報告されており[1, 4-8, 11, 12]、アメリカン・コッカー・スパニエルでは常染色体劣性遺伝が示唆されている[13, 14]。アメリカン・コッカー・スパニエルの多くは真性半陰陽であり、少なくとも正常な卵巣を一つ持つ個体は繁殖が可能であり、卵精巣を持つ個体では繁殖可能なものとそうでないものが存在する。いっぽう、核型が明らかな仮性半陰陽の報告はごく少数であり、精巣、精巣上体、陰茎、陰茎骨、前立腺、包皮、子宮および外陰を持ち、卵巣および陰嚢を欠く表現型が報告されている[13, 14]。本症例は前立腺と陰茎体や包皮を欠き、存在する陰茎骨も小さな骨化にとどまっており、雄性の表現型はほとんど認められなかった。類似の表現型はポデンコ犬のSRY遺伝子陰性XX雄1例で報告されている[4]。精巣上体は精巣の間質細胞からのテストステロン分泌によって分化促進される[1]。本症例ではホルモン測定を実施していないが、摘出した精巣では間質細胞が多数確認され、精巣上体も認められたことから、形成された間質細胞は機能していたことが考えられた。前立腺や陰嚢の形成には、 $5\alpha$ -リダクターゼによってテストステロンから還元されるジヒドロテストステロンが関与している[1]。ジヒドロテストステロンの受容体はテストステロンと共通なので、前立腺の未形成に受容体の異常は関与していないと考えられることから[4]、本症例における前立腺

の未形成は、 $5\alpha$ -リダクターゼ活性の低下が関与しているかもしれない。

マウスのXX雄ではSRY遺伝子が常染色体へ転座しているために起こり、人のXX男性の約80%はSRY遺伝子陽性XX型男性である[15]。しかし、犬ではSRY遺伝子陽性の報告はなく、犬の精巣形成にはSRY遺伝子とは異なる性腺決定遺伝子の活性機構が存在するのかもしれない。人SRY遺伝子陰性XX男性ではSOX(SRY-related box)9遺伝子発現の増強やRSPO1(R-spondin 1)遺伝子の変異が報告されているが[16-18]、犬SRY遺伝子陰性XX雄における犬SOX9やRSPO1遺伝子の関与は否定的である[19-20]。

犬の染色体数は $2n = 78$ であり、人( $2n = 46$ )や猫( $2n = 38$ )に比べて多い。また、犬の常染色体の大きさや形は比較的均一でさまざまな識別法が報告されているが、実際の識別は困難である[21]。本症例および正常犬を用いたギムザ染色法では、染色体総数といくつかの分裂像でX染色体の識別は可能であったが、十分な数の細胞分裂中期像を観察・分析できなかったため、犬性染色体特異的プローブを用いたFISH法を実施した。著者らの知るかぎり、犬SRY遺伝子陰性XX雄における核型検査で、性染色体を明確に図示した報告はない。FISH法はX染色体とY染色体の局在が容易に識別可能であったことから、性染色体異常の検査には有用な診断法であることが確認された。

### 引用文献

- [1] Lyle SK: Disorders of sexual development in the dog and cat, *Theriogenology*, 68, 338-343 (2007)
- [2] Koopman P, Gubbay J, Vivian N, Goodfellow P, Lovell-Badge R: Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry, *Nature*, 351, 117-121 (1991)
- [3] de la Chapelle A, Hastbacka J, Korhonen T, Maenpaa J: The etiology of XX sex reversal, *Reprod Nutr Dev, Suppl 1*, 39s-49s (1990)
- [4] Buijtel JJ, de Gier J, van Haeften T, Kooistra HS, Spee B, Veldhuis Kroeze EJ, Zijlstra C, Okkens AC: Minimal external masculinization in a SRY-negative XX male Podenco dog, *Reprod Domest Anim*, 44, 751-756 (2009)
- [5] Hubler M, Hauser B, Meyers-Wallen VN, Arnold S: Sry-negative XX true hermaphrodite in a Basset hound, *Theriogenology*, 51, 1391-1403 (1999)
- [6] Meyers-Wallen VN, Bowman L, Acland GM, Palmer VL, Schlafer D, Fajt V: Sry-negative XX sex reversal in the German shorthaired pointer dog, *J Hered*, 86, 369-374 (1995)
- [7] Meyers-Wallen VN, Palmer VL, Acland GM, Hershfield B: Sry-negative XX sex reversal in the American cocker spaniel dog, *Mol Reprod Dev*, 41, 300-305 (1995)

- [8] Meyers-Wallen VN, Schlafer D, Barr I, Lovell-Badge R, Keyzner A : Sry-negative XX sex reversal in purebred dogs, *Mol Reprod Dev*, 53, 266-273 (1999)
- [9] Miki R, Okuda M, Oikawa T, Watanabe M, Ma Z, Matsumoto K, Iwata H, Inokuma H : Centrosome amplification and chromosomal instability in feline lymphoma cell lines, *J Vet Med Sci*, 66, 797-805 (2004)
- [10] Campos M, Moreno-Manzano V, Garcia-Rosello M, Garcia-Rosello E : SRY-Negative XX Sex Reversal in a French Bulldog, *Reprod Domest Anim*, (in press) (2010)
- [11] Rota A, Cucuzza AS, Iussich S, Delorenzi L, Parma P : The Case of an Sry-Negative XX Male Pug With an Inguinal Gonad, *Reprod Domest Anim*, 45, 743-745 (2010)
- [12] Meyers-Wallen VN : Genetics, genomics, and molecular biology of sex determination in small animals, *Theriogenology*, 66, 1655-1658 (2006)
- [13] Meyers-Wallen VN, Patterson DF : XX sex reversal in the American cocker spaniel dog : phenotypic expression and inheritance, *Hum Genet*, 80, 23-30 (1988)
- [14] Selden JR, Moorhead PS, Koo GC, Wachtel SS, Haskins ME, Patterson DF : Inherited XX sex reversal in the cocker spaniel dog, *Hum Genet*, 67, 62-69 (1984)
- [15] McElreavey K, Rappaport R, Vilain E, Abbas N, Richaud F, Lortat-Jacob S, Berger R, Le Coniat M, Boucekkine C, Kucheria K, et al. : A minority of 46, XX true hermaphrodites are positive for the Y-DNA sequence including SRY, *Hum Genet*, 90, 121-125 (1992)
- [16] Chassot AA, Gregoire EP, Magliano M, Lavery R, Chaboissier MC : Genetics of ovarian differentiation : Rspo1, a major player, *Sex Dev*, 2, 219-227 (2008)
- [17] Chassot AA, Ranc F, Gregoire EP, Roepers-Gajadien HL, Taketo MM, Camerino G, de Rooij DG, Schedl A, Chaboissier MC : Activation of beta-catenin signaling by Rspo1 controls differentiation of the mammalian ovary, *Hum Mol Genet*, 17, 1264-1277 (2008)
- [18] Parma P, Radi O, Vidal V, Chaboissier MC, Dellambra E, Valentini S, Guerra L, Schedl A, Camerino G : R-spondin1 is essential in sex determination, skin differentiation and malignancy, *Nat Genet*, 38, 1304-1309 (2006)
- [19] De Lorenzi L, Groppetti D, Arrighi S, Pujar S, Nicoloso L, Molteni L, Pecile A, Cremonesi F, Parma P, Meyers-Wallen V : Mutations in the RSPO1 coding region are not the main cause of canine SRY-negative XX sex reversal in several breeds, *Sex Dev*, 2, 84-95 (2008)
- [20] Nowacka J, Nizanski W, Klimowicz M, Dzimira S, Switonski M : Lack of the SOX9 gene polymorphism in sex reversal dogs (78, XX; SRY negative), *J Hered*, 96, 797-802 (2005)
- [21] Reimann N, Bartnitzke S, Nolte I, Bullerdiek J : Working with canine chromosomes : current recommendations for karyotype description, *J Hered*, 90, 31-34 (1999)

---

### SRY negative XX male in a French bulldog

Kenji TANI<sup>\*†</sup>, Takehiro HAMAJI, Tomoya HARAGUCHI, Yasutaka ODA, Masaru OKUDA, Takuya MIZUNO, Kazuhito ITAMOTO and Yasuho TAURA

*\* Department of Veterinary Surgery, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677-1 Yoshida, Yamaguchi, 753-8515, Japan*

### SUMMARY

A thirteen-month-old French bulldog was referred for evaluation of a protrusion in the pubic region. Physical examination, radiographs and histopathological testing of both gonads following a gonadectomy indicated that the dog was a male pseudohermaphrodite. The karyotype was 78, XX chromosome, and the canine *SRY* gene was negative. Therefore, the present case was diagnosed as a *SRY* negative XX male in a French bulldog.

— Key words : gonad, hermaphroditism, karyotype.

† Correspondence to : Kenji TANI (Department of Veterinary Surgery, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University) 1677-1 Yoshida, Yamaguchi, 753-8515, Japan  
TEL · FAX 083-933-5908 E-mail : ktani@yamaguchi-u.ac.jp

— *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 64, 61 ~ 64 (2011)