

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：82612

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03616

研究課題名(和文) ヒト疾患を招く性染色体ゲノム脆弱性決定因子の解明

研究課題名(英文) Study for chromosomal instability leading to human disorders

研究代表者

深見 真紀 (Fukami, Maki)

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・分子内分泌研究部・部長

研究者番号：40265872

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、ヒト検体のゲノム解析に基づいて生殖細胞系列の性染色体異常の発症メカニズムを解明し、染色体異常が臨床症状を招く機序を明らかにすることである。本研究では、先天異常症候群、成長障害、性分化疾患、インプリンティング疾患などの症例のゲノム解析を行った。本研究期間内の代表的成果として、精子形成過程における複雑ゲノム再構成の成立機序の発見、初期胚における染色体異数性レスキュー成立時期の解明、Y染色体の数的および構造異常の病的意義の解明、性染色体構造異常がエピゲノムに及ぼす効果の解明、不完全トリソミーレスキューに起因する複雑ゲノム構造異常の同定などが挙げられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

染色体数あるいは構造の異常は、先天性疾患の原因の一つとして重要である。本研究では、多数の臨床検体の解析を行い、染色体異常の発症機序および臨床症状との関連について検討した。その結果、精子形成過程で染色体構造変化を招く新たなメカニズムが明らかとなった。また、Y染色体の数的変化が生産にわたって健康に影響を及ぼすことが見出された。本研究の成果は、世代間においてどのように遺伝的情報が伝達され、また変化し得るかを理解するための基盤となる。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to clarify novel mechanisms and phenotypic effects of de novo chromosomal abnormalities in the germline. To this end, we performed genome analyses for DNA samples obtained from patients with various types of developmental defects. Our results include (i) characterization of multifocal genomic crisis during spermatogenesis, (ii) determination of the timing of aneuploid rescue in early-stage embryos, (iii) clarification of life-long effects of Y chromosomal abnormalities, (iv) clarification of the effects of sex chromosomal rearrangements on epigenetic status, and (v) identification of a case with autosomal tetrasomy possibly created through incomplete trisomy rescue in micronuclei.

研究分野：人類遺伝学

キーワード：ゲノム 染色体構造異常 X染色体不活化 先天奇形

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

生殖細胞系列の染色体構造異常(ゲノム再編成)や染色体異数性は、ヒト遺伝疾患の原因の一つとして重要である。近年、アレイ comparative genomic hybridization (CGH) および次世代シーケンサー (NGS) などの遺伝子解析技術の普及によって、de novo 染色体異常に関する研究が急速に進展した。われわれは先行研究において、原因不明の先天奇形症候群や成長障害、インプリンティング異常症などを呈する患者のゲノム解析を行い、疾患に関与する染色体構造異常や片親性ダイソミーを同定した。一方、このような研究で同定された染色体異常の大部分では発症機序が未解明であった。また、染色体の変化が表現型に与える効果についても十分検討されていなかった。

#### 2. 研究の目的

本研究の目的は、多数のヒト検体のゲノム解析に基づいて性染色体異常の発症メカニズムを解明し、染色体異常が臨床症状を招く機序を明らかにすることである。

#### 3. 研究の方法

- (1) 検体集積：全国の医療機関と連携し、先天異常症候群、成長障害、性分化疾患、インプリンティング疾患などの症例の臨床検体を集積した。さらに、先行研究で集積した 2000 例以上の先天異常患者を対象として以下の解析を行った。
- (2) ゲノムコピー数解析：アレイ CGH および Multiplex ligation dependent probe amplification によるゲノムコピー数異常(CNV)の検討を行った。
- (3) 染色体異常の構造決定：CNV が検出された症例では、高精度染色体感染、両親と本人のマイクロサテライト解析とジェノタイピング、FISH, NGS もしくは serial PCR 等による切断点の構造決定を行い、染色体構造を明らかとした。とくに複雑な構造を有する症例では、全ゲノムシーケンスデータを用いた haplotype-phasing をおこなった。
- (4) 片親性ダイソミーの解析：インプリンティング疾患患者や稀なバリエーションをホモ接合性に有する患者の CGH+SNP アレイ解析より、片親性ダイソミーを有する症例を見出した。さらにそのゲノム構造と親由来を明らかにした。女性患者ではさらに、AR 遺伝子の DNA メチル化解析によって X 染色体不活化パターンについて検討した。
- (5) 臨床像の解析：CNV が同定された患者の臨床データを集積し、染色体構造異常と表現型の関連について検討した。

#### 4. 研究成果

- (1) 複雑ゲノム再構成の新たな成立機序の発見：成長障害、多発奇形、新生児一過性糖尿病を呈する男児において、5 つの染色体上に独立して生じた複雑構造異常を同定した。患者と両親の whole genome sequencing, haplotype phasing, マイクロサテライト解析、高精度感染などにより、このゲノム再構成の発症機序について検討した。その結果、これらのゲノム再構成はいずれも父由来染色体上に生じた de novo 異常であることが判明した。PLAGL1 プロモーターの DNA メチル化は正常下限から軽度低値であり、患児の成長障害と新生児一過性糖尿病は父由来 PLAGL1 アリルのコピー数増加に起因するものと考えられた。患者の成長障害と奇形は CNV に含まれる遺伝子の過剰もしくは欠失に起因すると推測された。このゲノム変化の一部には、クロモスリプシスが関与していた。出生後のゲノム脆弱性は否定された。患児のゲノム再構成は、従来想定されている非対立遺伝子間相同組換え、非相同末端再結合、微小核を介した chromoanagenesis では説明困難であり、その主体はマイクロホモロジーを介した DNA 複製エラーであることが見出された。以上の成績は、ヒト配偶子形成過程においてこれまで知られていなかった一過性ゲノム脆弱性が存在することを示唆する。本研究によってヒト精子形成過程における多焦点性染色体構造異常を招く新たな現象が明らかとなった。
- (2) 染色体異数性レスキュー成立時期の解明：受精直後の染色体異数性レスキューに起因する片親性ダイソミー患者の X 染色体不活化解析を行った。その結果、これらの患者では一般女性に比較して不活化の偏りが顕著であることが見いだされた。統計学的モデル解析によって、異数性レスキューが、不活化 X 染色体決定期の胎児幹細胞数の減少を介して、X 不活化の偏りを招くことが明らかとなった。とくに重要な点として、出生を可能とするモノソミーレスキューが 3-4 細胞期に限局して生じることが示唆された。

- (3) Y 染色体の数的および構造異常の病的意義の解明：体細胞性 Y 染色体モザイク欠失が、胎児期から老年期までの男性の生涯における各段階において生じ、性分化疾患や生殖機能障害を含むさまざまな疾患に関与することを明らかとした。また、この発症に Y 染色体特異的パリンドローム構造が関係することを見出した。さらに、低相同性配列を介した Y 染色体と常染色体間の不均衡型転座が、45,X 核型患者における精巢性性分化疾患を招くことを明らかとした。
- (4) 性染色体構造異常がエピゲノムに及ぼす効果の解明：性染色体異常症患者の DNA メチル化解析に基づき、性染色体擬常染色体領域内に成長遺伝子 SHOX の新たな遠位エンハンサーが存在する可能性があること、また SHOX エンハンサー欠失患者の SHOX 発現低下は SHOX 周辺 CpG 領域の DNA メチル化の破綻を伴わないことを明確とした。
- (5) 不完全トリソミーレスキューに起因する複雑ゲノム構造異常の同定：15 番染色体テトラソミー患者の解析に基づき、不完全型トリソミーレスキューの際に生じる微小核でのクロモソプシスが、このような特異的複雑ゲノム再編成の原因となることを提唱した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Suzuki Erina, Shima Hirohito, Kagami Masayo, Soneda Shun, Tanaka Toshiaki, Yatsuga Shuichi, Nishioka Junko, Oto Yuji, Kamiya Toshiya, Naiki Yasuhiro, Ogata Tsutomu, Fujisawa Yasuko, Nakamura Akie, Kawashima Sayaka, Morikawa Shuntaro, Horikawa Reiko, Sano Shinichiro, Fukami Maki	4. 巻 6
2. 論文標題 (Epi)genetic defects of MKRN3 are rare in Asian patients with central precocious puberty	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Human Genome Variation	6. 最初と最後の頁 .
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/s41439-019-0039-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshii Keisuke, Matsumoto Hideki, Hirasawa Kyoko, Sakauchi Masako, Hara Hiroko, Ito Susumu, Osawa Makiko, Fukami Maki, Horikawa Reiko, Nagata Satoru	4. 巻 57
2. 論文標題 Microdeletion in Xq28 with a polymorphic inversion in a patient with FLNA-associated progressive lung disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Respiratory Investigation	6. 最初と最後の頁 395 ~ 398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.resinv.2019.02.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawashima Sayaka, Nakamura Akie, Inoue Takanobu, Matsubara Keiko, Horikawa Reiko, Wakui Keiko, Takano Kyoko, Fukushima Yoshimitsu, Tatematsu Toshi, Mizuno Seiji, Tsubaki Junko, Kure Shigeo, Matsubara Yoichi, Ogata Tsutomu, Fukami Maki, Kagami Masayo	4. 巻 103
2. 論文標題 Maternal Uniparental Disomy for Chromosome 20: Physical and Endocrinological Characteristics of Five Patients	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism	6. 最初と最後の頁 2083 ~ 2088
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1210/jc.2017-02780	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyado Mami, Fukami Maki	4. 巻 .
2. 論文標題 Losing maleness: Somatic Y chromosome loss at every stage of a man's life	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FASEB BioAdvances	6. 最初と最後の頁 .
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1096/fba.2019-00006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyado Mami, Muroya Koji, Katsumi Momori, Saito Kazuki, Kon Masafumi, Fukami Maki	4. 巻 154
2. 論文標題 Somatically Acquired Isodicentric Y and Mosaic Loss of Chromosome Y in a Boy with Hypospadias	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cytogenetic and Genome Research	6. 最初と最後の頁 122 ~ 125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000488162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukami M, Kurahashi H.	4. 巻 1769
2. 論文標題 Clinical Consequences of Chromothripsis and Other Catastrophic Cellular Events.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 21-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Suzuki Erina, Bo Ryosuke, Sue Kaori, Awano Hiroyuki, Ogata Tsutomu, Narumi Satoshi, Kagami Masayo, Sano Shinichiro, Fukami Maki	4. 巻 153
2. 論文標題 A de novo 50-bp <i>GNAS</i> Intragenic Duplication in a Patient with Pseudohypoparathyroidism Type 1a	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cytogenetic and Genome Research	6. 最初と最後の頁 125 ~ 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000485644	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogushi Kenichiro, Hattori Atsushi, Suzuki Erina, Shima Hirohito, Izawa Masako, Yagasaki Hideaki, Horikawa Reiko, Uetake Kimiaki, Umezawa Akihiro, Ishii Tomohiro, Muroya Koji, Namba Noriyuki, Tanaka Toshiaki, Hirano Yasuhiro, Yamamoto Hitoshi, Soneda Shun, Matsubara Keiko, Kagami Masayo, Miyado Mami, Fukami Maki	4. 巻 158
2. 論文標題 DNA Methylation Status of <i>SHOX</i> -Flanking CpG Islands in Healthy Individuals and Short Stature Patients with Pseudoautosomal Copy Number Variations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cytogenetic and Genome Research	6. 最初と最後の頁 56 ~ 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1159/000500468	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uehara Erika, Hattori Atsushi, Shima Hirohito, Ishiguro Akira, Abe Yu, Ogata Tsutomu, Ogawa Eishin, Fukami Maki	4. 巻 158
2. 論文標題 Unbalanced Y;7 Translocation between Two Low-Similarity Sequences Leading to <i>SRY</i> -Positive 45,X Testicular Disorders of Sex Development	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cytogenetic and Genome Research	6. 最初と最後の頁 115 ~ 120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1159/000501378	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hattori Atsushi, Okamura Kohji, Terada Yumiko, Tanaka Rika, Katoh-Fukui Yuko, Matsubara Yoichi, Matsubara Keiko, Kagami Masayo, Horikawa Reiko, Fukami Maki	4. 巻 12
2. 論文標題 Transient multifocal genomic crisis creating chromothriptic and non-chromothriptic rearrangements in prezygotic testicular germ cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Medical Genomics	6. 最初と最後の頁 .
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1186/s12920-019-0526-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ogushi Kenichiro, Muroya Koji, Shima Hirohito, Jinno Tomoko, Miyado Mami, Fukami Maki	4. 巻 179
2. 論文標題 SHOX far-downstream copy-number variations involving cis-regulatory nucleotide variants in two sisters with Leri-Weill dyschondrosteosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Journal of Medical Genetics Part A	6. 最初と最後の頁 1778 ~ 1782
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1002/ajmg.a.61275	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kinoshita Takahiro, Mikami Masashi, Ayabe Tadayuki, Matsubara Keiko, Ono Hiromi, Ohki Kentaro, Fukami Maki, Katoh-Fukui Yuko	4. 巻 159
2. 論文標題 Frequency of Common Copy-Number Variations at 15q11.2q13 in Sperm of Healthy Men	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cytogenetic and Genome Research	6. 最初と最後の頁 66 ~ 73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1159/000503267	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsubara Keiko, Yanagida Kaede, Nagai Toshiro, Kagami Masayo, Fukami Maki	4. 巻 11
2. 論文標題 De Novo Small Supernumerary Marker Chromosomes Arising From Partial Trisomy Rescue	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Genetics	6. 最初と最後の頁 .
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.3389/fgene.2020.00132	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Fukami M
2. 発表標題 Molecular basis of disorders of sex development In: Meet-the-Expert session.
3. 学会等名 16th Asia-Oceania Congress of Endocrinology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 深見真紀
2. 発表標題 Y染色体とMen ' s health.
3. 学会等名 泌尿器抗加齢医学研究会第10回研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fukami M
2. 発表標題 New aspects in human sex development.
3. 学会等名 Pediatric Academic Societies Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 深見真紀
2. 発表標題 成長障害の分子基盤：ゲノム疾患としてのSHOX異常症
3. 学会等名 第90回日本内分泌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 深見真紀
2. 発表標題 染色体構造異常・片親性ダイソミーと疾患
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第62回大会（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 深見真紀	4. 発行年 2019年
2. 出版社 一式出版	5. 総ページ数 542
3. 書名 遺伝子から解き明かす性の不思議な世界	

〔産業財産権〕

〔その他〕

国立研究開発法人国立成育医療研究センター分子内分泌研究部 <a href="http://nrichd.ncchd.go.jp/endocrinology/">http://nrichd.ncchd.go.jp/endocrinology/</a> 研究開発法人国立成育医療研究センター分子内分泌研究部 <a href="http://nrichd.ncchd.go.jp/endocrinology/">http://nrichd.ncchd.go.jp/endocrinology/</a>
--



## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	倉橋 浩樹  (Kurahashi Hiroki)  (30243215)	藤田医科大学・総合医科学研究所・教授     (33916)	