

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02940

研究課題名（和文）三世代男系由来Y染色体パネル作成とその応用

研究課題名（英文）Preparation and Application of Y chromosome Panel using BirThree Cohort Men

研究代表者

鈴木 吉也（Suzuki, Kichiya）

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・教授

研究者番号：30422116

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：不妊原因の10%以上が男性因子と考えられその原因の一つとしてゲノム異常が目立っている。本研究ではこれまでに培ったゲノム基盤を元に妊孕性に関連したリファレンスパネルを構築することを目的とした。東北メディカル・メガバンク機構が保有する全ゲノムデータより妊孕性を有する男性由来のリファレンスパネルを作成し、これを持ちいて男性不妊患者精液17検体より得られた全ゲノムデータをその後の解析に供したところ、最終的にSNPが180K箇所以上検出され、AF>0.8以上のものは11K箇所以上検出された。本結果は最終年度に予定されている男性不妊のゲノム解析を行う際に重要なプラットフォームになると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の所属する東北大学東北メディカル・メガバンク機構は、被災地復興のための次世代医療の開発に主眼を置いており、被災地の復興には地域コミュニティの復興も重要であると考え、その一翼として生殖医療研究の基盤としてゲノム解析の重要性を認識して来た。本研究により、健康人コホート由来のリファレンスパネルよりさらに妊孕性に着目したリファレンスパネルを作成し男性不妊症患者の全ゲノム解析に供した結果、多くの原因遺伝子SNPが同定されたが、この成果は今後の生殖医療領域における重要なゲノム基盤となりうることを示している。

研究成果の概要（英文）：More than 10% of the causes of infertility are considered to be male factors, and genomic abnormalities are attracting attention as one of the causes. The purpose of this study was to construct a reference panel related to fertility based on the genomic basis cultivated so far. A reference panel derived from a male with fertility was created from the whole genome data held by the Tohoku Medical Megabank Organization, and the whole genome data obtained from 17 semen samples of male infertility patients was used for the subsequent analysis. However, in the end, 180K SNPs were detected, and 11K of AF>0.8 were detected. This result will be an important platform for the genome analysis of male infertility in the future.

研究分野：男性不妊

キーワード：男性不妊 ゲノム解析 リファレンスパネル 精子

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

不妊原因の 10%以上が男性因子と考えられ、その原因の一つとして Y 染色体のゲノム異常が注目されている。Y 染色体は、ヒトゲノム計画の一部としての全ゲノム解析が完了しているが、回文構造や繰返配列の複雑さもあり、ゲノム研究の基盤となる、特に日本人由来の Y 染色体リファレンスパネルは作成されていない。Y 染色体に限らず、男性不妊症関連のゲノム解析は、候補遺伝子のターゲットリシーケンスや、エクソン領域のシーケンスについては報告があるが、アレイや全ゲノムデータを使ったアプローチはあまり行われておらず、特に日本人集団を対象とした大規模ゲノム解析報告は少ない。また、ハプロタイプベースの解析では、日本人は、欧米では稀でアジアで見られる特定のハプロタイプの頻度が比較的高く、精子形成関連遺伝子のコピー数が少ないのに集団内でそのハプロタイプが維持されていることが説明できていないなど、それらの人類遺伝学的な領域についても本研究で得られる知見は多いと考えられた。

### 2. 研究の目的

本研究では、東北メディカル・メガバンク機構がこれまでに培った健常者由来全ゲノムリファレンスパネルを基盤に、妊孕性を有することが確認された健常者由来リファレンスパネルを構築する。このリファレンスパネルを基に、男性不妊患者由来の全ゲノムデータ解析を行い、症例に特異的な SNPs を検出する。将来的には症例を集積し男性不妊症診断に活用することを最終目的とする。

### 3. 研究の方法

#### ・ゲノム DNA 抽出と全ゲノム解析

不妊外来を受診した患者より得られた精液を用いてゲノム DNA を抽出後シーケンスライブラリを作製した。シーケンスにはイルミナ社 NovaSeq6000 を使用しシーケンス解析には bcl2fastq2 conversion software を使用した。その後得られたリード配列を参照ゲノム配列にマッピングを行い SNPs を検出し vcf ファイルを作成した。

#### ・妊孕性を有する男性由来のリファレンスパネル作成

東北大学 東北メディカル・メガバンク機構が保有する地域住民コホート (version 2.2.0 全ゲノムリファレンスパネル (3.5KJPNv2) 対象者 3500 人分) より子供を有するという条件で男性を 741 名、三世代コホート (version 2.4.0 三世代コホートヘプタファミリー-1,107 人分) より父親または祖父という条件で 474 名抽出し近親者排除を行なった後、妊孕性を有する男性由来のリファレンスパネルを作成した。

### 4. 研究成果

#### ・妊孕性を有する男性由来のリファレンスパネルの検証

抽出された検体で作成した妊孕性を有する男性由来のリファレンスパネルと 8.3KJPN リファレンスパネルを比較したところ、僅かな差異が認められた(図1)。

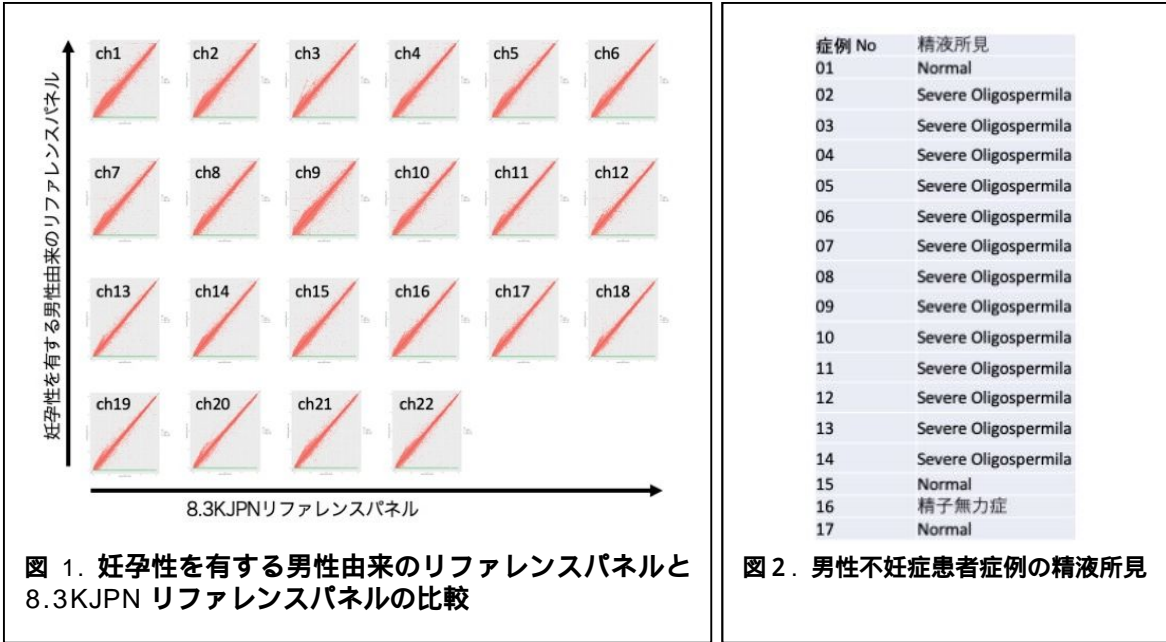


図1. 妊孕性を有する男性由来のリファレンスパネルと 8.3KJPN リファレンスパネルの比較

図2. 男性不妊症患者症例の精液所見

・男性不妊患者由来前ゲノムデータで検出された変異毎の頻度計算及びアノテーション

前述された妊孕性を有する男性由来リファレンスパネルと男性不妊患者由来前ゲノムデータから、変異毎の頻度計算及びアノテーション(遺伝子・rsID等)を行った。男性不妊患者17検体で同じ部位の変異を示す部位を探索するためにアレル頻度(Allele Frequency, AF)計算を行った。その結果、全染色体で187332個のSNPsが検出されそのうちAF>0.8以上のものは11183個であった(図3)。特にY染色体でAF>0.8以上のSNPsの割合が多く認められた。

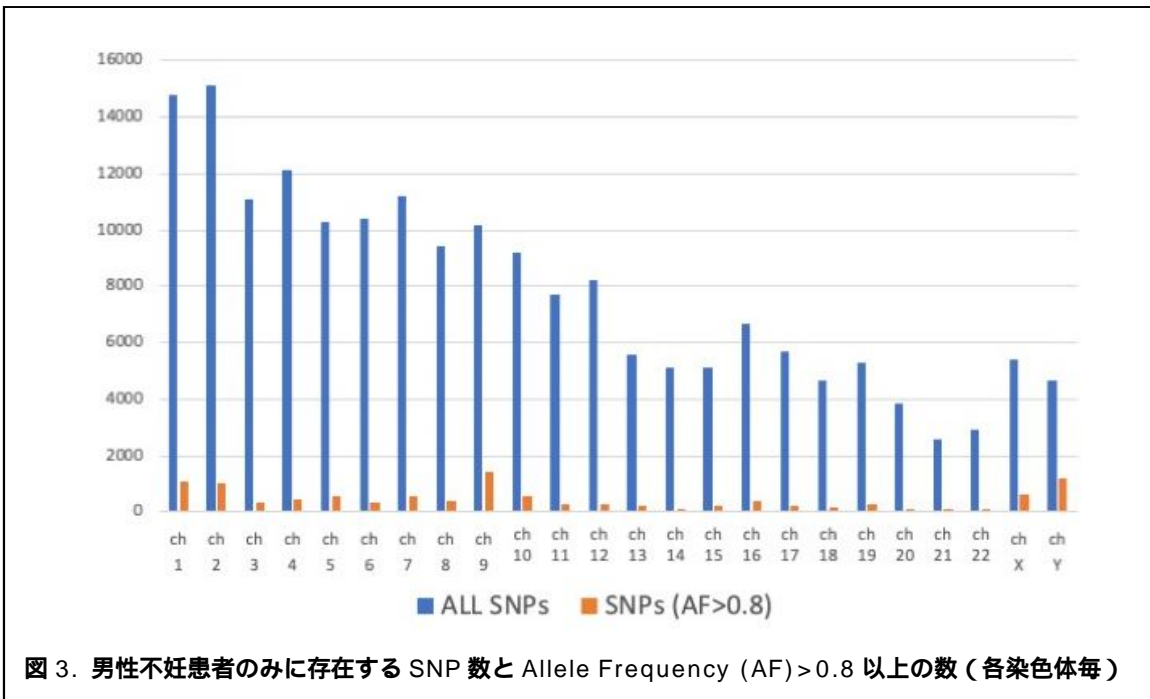


図3. 男性不妊患者のみに存在するSNP数とAllele Frequency (AF)>0.8以上の数(各染色体毎)

以上の結果より、全ゲノム解析の変異検出の感度の高さが示された。全ゲノム解析のコストが低下していることから今後の普及が期待される。今回、非常に多くの男性不妊特異的SNPsの検出を行うことができたが、本研究の結果は今後の症例の蓄積によりゲノム構造多型に注目した解析手法にも活用することが可能である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Yasuda Jun, Kinoshita Kengo, Katsuoka Fumiki, Danjoh Inaho, Motoike Ikuko N, Kuroki Yoko, Saito Sakae, Kojima Kaname, Shirota Matsuyuki, Saigusa Daisuke, Otsuki Akihito, Kawashima Junko, Yamaguchi-Kabata Yumi, Suzuki Kichiya, Kawame Hiroshi et al.	4. 巻 165
2. 論文標題 Genome analyses for the Tohoku Medical Megabank Project towards establishment of personalized healthcare	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 139 ~ 158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvy096	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 Tanikawa Chizu, Suzuki Kichiya, Ogishima Soichi et al.	4. 巻 30
2. 論文標題 Novel Risk Loci Identified in a Genome-Wide Association Study of Urolithiasis in a Japanese Population	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Society of Nephrology	6. 最初と最後の頁 855 ~ 864
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1681/ASN.2018090942	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 Tanikawa Chizu, Kamatani Yoichiro, Terao Chikashi, Usami Masayuki, Takahashi Atsushi, Momozawa Yukihide, Suzuki Kichiya, Ogishima Soichi, Shimizu Atsushi, Satoh Mamoru, Matsuo Keitaro, Mikami Haruo, Naito Mariko, Wakai Kenji, Yamaji Taiki et al.	4. 巻 Jan
2. 論文標題 GWAS identifies nine nephrolithiasis susceptibility loci related with metabolic metabolic and crystallization pathways	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/519553	査読の有無 無
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 Takata Ryo, Takahashi Atsushi, Fujita Masashi, Momozawa Yukihide, Saunders Edward J., Yamada Hiroki, Maejima Kazuhiro, Nakano Kaoru, Nishida Yuichiro, Hishida Asahi, Matsuo Keitaro, Wakai Kenji, Yamaji Taiki, Sawada Norie, Iwasaki Motoki, Tsugane Shoichiro, Sasaki Makoto, Suzuki Kichiya, Matsuda Koichi et al.	4. 巻 10
2. 論文標題 12 new susceptibility loci for prostate cancer identified by genome-wide association study in Japanese population	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4422
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-12267-6	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 Minegishi Naoko, Nishijima Ichiko, Nobukuni Takahiro, Kudo Hisaaki, Ishida Noriko, Terakawa Takahiro, Kumada Kazuki, Yamashita Riu, Katsuoka Fumiki, Ogishima Soichi, Suzuki Kichiya, Sasaki Makoto, Satoh Mamoru, Tohoku Medical Megabank Project Study Group, Yamamoto Masayuki	4. 巻 248
2. 論文標題 Biobank Establishment and Sample Management in the Tohoku Medical Megabank Project	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Tohoku Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 45 ~ 55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1620/tjem.248.45	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 Kuriyama Shinichi, Metoki Hirohito, Kikuya Masahiro, Obara Taku, Ishikuro Mami, Yamanaka Chizuru, Nagai Masato, Matsubara Hiroko, Kobayashi Tomoko, Sugawara Junichi, Tamiya Gen, Hozawa Atsushi, Nakaya Naoki, Tsuchiya Naho, Nakamura Tomohiro, Narita Akira, Suzuki Kichiya, Ishii Naoto et al.	4. 巻 49
2. 論文標題 Cohort Profile: Tohoku Medical Megabank Project Birth and Three-Generation Cohort Study (TMM BirThree Cohort Study): rationale, progress and perspective	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Epidemiology	6. 最初と最後の頁 18 ~ 19m
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ije/dyz169	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 Tsuboi Akito, Matsui Hiroyuki, Shiraishi Naru, Murakami Takahisa, Otsuki Akihito, Kawashima Junko, Kiyama Tomomi, Tamahara Toru, Goto Maki, Koyama Shihoko, Sugawara Junichi, Kodama Eiichi N., Metoki Hirohito, Hozawa Atsushi, Kuriyama Shinichi, Tomita Hiroaki et al.	4. 巻 251
2. 論文標題 Design and Progress of Oral Health Examinations in the Tohoku Medical Megabank Project	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Tohoku Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 97 ~ 115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1620/tjem.251.97	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 Ishigaki Kazuyoshi, Akiyama Masato, Kanai Masahiro, Takahashi Atsushi, Kawakami Eiryo, Sugishita Hiroki, Sakaue Saori, Matoba Nana, Low Siew-Kee, Okada Yukinori, Terao Chikashi, Amariuta Tiffany, Gazal Steven, Kochi Yuta, Horikoshi Momoko, Suzuki Ken, Ito Kaoru, Suzuki Kichiya, Tanno Kozo et al.	4. 巻 52
2. 論文標題 Large-scale genome-wide association study in a Japanese population identifies novel susceptibility loci across different diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Genetics	6. 最初と最後の頁 669 ~ 679
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41588-020-0640-3	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 Sugawara Junichi, Ishikuro Mami, Obara Taku, Onuma Tomomi, Murakami Keiko, Kikuya Masahiro, Ueno Fumihiko, Noda Aoi, Mizuno Satoshi, Kobayashi Tomoko, Hamanaka Yohei, Suzuki Kichiya, Kodama Eiichi, Tsuchiya Naho, Uruno Akira, Suzuki Yoichi, Tanabe Osamu, Kiyomoto Hideyasu, Tsuboi Akito et al.	4. 巻 2020
2. 論文標題 Maternal Baseline Characteristics and Perinatal Outcomes: The Tohoku Medical Megabank Project Birth and Three-Generation Cohort Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Epidemiology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2188/jea.JE20200338	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1件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 鈴木 吉也
2. 発表標題 東北メディカル・メガバンク計画 -15万人ゲノムコホートの生殖領域研究への応用-
3. 学会等名 第50回精子研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	黒木 陽子 (Kuroki Yoko) (10344037)	国立研究開発法人国立成育医療研究センター・ゲノム医療研究部・室長  (82612)	
研究分担者	立花 眞仁 (Tachibana Masahito) (30431571)	東北大学・大学病院・准教授  (11301)	
研究分担者	勝岡 史城 (Katsuoka Fumiki) (30447255)	東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・教授  (11301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	田高 周  (Tadaka Shu)  (60815463)	東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・助教   (11301)	
研究分担者	栗山 進一  (Kuriyama Shinichi)  (90361071)	東北大学・災害科学国際研究所・教授   (11301)	
研究分担者	長崎 正朗  (Nagasaki Masao)  (90396862)	京都大学・スーパーグローバルコース医学生命系ユニット・特定教授   (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関