

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22515

研究課題名（和文）異数性モザイクの発生過程における正常核型と異数性ライン間での細胞競合に関する研究

研究課題名（英文）Cell competition analysis using model cells of mosaic aneuploidy

研究代表者

松浦 伸也（Matsuura, Shinya）

広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授

研究者番号：90274133

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：モザイク状トリソミーのモザイク率は発生する組織によって変動することが知られているが、そのメカニズムは明らかにされていない。今回、遺伝的背景を一致させた21トリソミーiPS細胞クローンとダイソミーiPS細胞に、それぞれ異なる蛍光色素遺伝子を1コピーずつノックインして、細胞競合について検討した。その結果、正常核型とトリソミー細胞間の細胞競合は、細胞分化後の機能的優劣ではなく、増殖能の違いを反映している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

着床前の初期胚では、細胞から異常染色体が排除されて正常核型へと自己修正される現象が知られており、染色体を次世代に正しく伝える生体メカニズムの一つと考えられている。本研究では、iPS細胞をモデルとして染色体の自己修正メカニズムの解明を試みた。本研究テーマは、胎児発育不全の原因となる胎盤限局性モザイクの発症や、片親性ダイソミーの発症、体外受精などの生殖補助医療とも深く関係していることから、ヒト疾患の発症機序の解明に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：Mosaic trisomy has different mosaicism rates depending on the tissue in which it occurs, but the mechanism of mosaicism has not been clarified. In this study, we analyzed cell competition by knocking in different fluorescent reporter genes into 21trisomy iPS cells and disomy iPS cells, respectively. The results suggested that cell competition between normal karyotype and trisomy cells may reflect differences in proliferative capacity rather than functional superiority after cell differentiation.

研究分野：遺伝医学

キーワード：染色体 異数性 細胞競合

1. 研究開始当初の背景

異数性モザイクとは、染色体数の異なる細胞群が同一個体に混在する病態であり、とくに正常核型とトリソミーが混在した個体をモザイク・トリソミーと呼び、代表的疾患としてモザイク型ダウン症(モザイク・トリソミー-21)が知られている。モザイク・トリソミーは、減数分裂の染色体不分離によって生じたトリソミーの受精卵が、卵割の過程で一部の細胞において余剰の染色体が排除され正常核型となる「トリソミーレスキュー」が生じることに起因する。一般的にモザイク・トリソミーの表現型は、フル・トリソミーに比べて軽く、また、正常核型細胞のモザイク頻度が高いほど表現型が軽いとされている。さらに興味深いことに、モザイク・トリソミーのモザイク率が、発生組織や時期によって変動する現象が知られており、正常核型細胞とトリソミー細胞との競合が臨床像を決定する機構の存在が示唆される。しかし、正常核型細胞とトリソミー細胞との細胞競合は、増殖能力の違いによるものなのか、細胞分化後の機能的な優劣によるものなのか、といった本質的な問題は未解決である。

2. 研究の目的

最近、トリソミーレスキュー現象が、細胞の初期化(リプログラミング)によって誘導されることが報告されており(*Nature* 2014, *Science* 2017)、予備実験においてもフル・トリソミー-21由来皮膚線維芽細胞の初期化によって正常核型iPS細胞クローンの単離に成功している。そこで本研究では、ゲノム編集技術を用いて蛍光標識したトリソミーiPS細胞とトリソミーレスキューiPS細胞を作成して、細胞増殖相と分化相における正常核型細胞と異数性細胞との細胞競合の実体を明らかにすることを研究目的としている。

3. 研究の方法

代表的なトリソミー症候群である21トリソミーと13トリソミー、18トリソミーの患者細胞からそれぞれiPS細胞株を樹立して、染色体解析法とFISH法、SNPアレイを実施する。これによりトリソミーレスキューの頻度や発生時期などを検討する。

21トリソミーがレスキューされたダイソミーiPS細胞クローンとレスキューされなかったトリソミーiPS細胞クローンについて、申請者らが構築した非相同末端結合を用いた高効率な遺伝子ノックイン技術であるCRISPR/ObLiGaRe法を用いて(*Sci Rep* 2017)、各細胞のセーフハーバースイトAAVS1遺伝子座に、核移行シグナルを付加したEGFPまたはRFP遺伝子を1コピーずつノックインする。これにより、遺伝的背景を厳密に揃えた状態で異数性モザイク集団の細胞競合を評価する。

4. 研究成果

21、18、13トリソミーの患者皮膚線維芽細胞に山中因子を導入してiPS細胞リプログラミングを行ったところ、各トリソミー症候群の少なくとも1つの細胞からトリソミーレスキューされたダイソミー細胞クローンが樹立された。ダイソミー染色体は、3通り全ての組み合わせが認められ、分節性片親性ダイソミーまたはヘテロダイソミーを示した。このことから、iPS細胞リプログラミングに伴うトリソミーレスキューは、トリソミー染色体の1本がランダムに喪失することが分かった。iPS細胞を樹立後、速やかに染色体核型を調べたが、染色体モザイクはほとんど見られなかったことから、トリソミー染色体の喪失はiPS細胞リプログラミングのごく初期

に起こると考えられた。

21 トリソミーがレスキューされたダイソミー iPS 細胞クローンとレスキューされなかったトリソミー iPS 細胞クローンのセーフハーバーサイト *AAVS1* 遺伝子座に、核移行シグナルを付加した EGFP または RFP 遺伝子を 1 コピーずつノックインした。これにより、遺伝的背景を厳密に揃えた状態で細胞競合を調べることが可能となった。そこで、ダイソミー細胞とトリソミー細胞を共培養してモザイク化をシミュレートしたところ、トリソミー細胞：ダイソミー細胞 = 9 : 1 および 7 : 3 の割合で混合した 2 つの培養系で、ダイソミー集団がトリソミー集団より増殖能力が強いことが分かり、異数性によるフィットネスペナルティが確認された。さらに、ダイソミー細胞とトリソミー細胞をそれぞれ心筋細胞に分化させて、共培養によるモザイク化を行うとともに、スクラッチ（創傷治癒）アッセイ法で細胞移動能を測定した。その結果、いずれのアッセイ法においても細胞分化後における機能的な変化は確認されなかった。以上より、正常核型細胞とトリソミー細胞との細胞競合は、細胞分化後の機能的な優劣よりも増殖能力の違いを反映している可能性が考えられた。今後は、さまざまな臓器に細胞を分化させて細胞競合を評価していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yukimoto Hiroki, Miyamoto Tatsuo, Kiyono Tohru, Wang Shujie, Matsuura Shinya, Mizoguchi Akira, Katayama Naoyuki, Inagaki Masaki, Kasahara Kousuke	4. 巻 527
2. 論文標題 A novel CDK-independent function of p27Kip1 in preciliary vesicle trafficking during ciliogenesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 716 ~ 722
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.05.048	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 Fujita Harumi, Sasaki Takashi, Miyamoto Tatsuo, Akutsu Silvia Natsuko, Sato Showbu, Mori Takehiko, Nakabayashi Kazuhiko, Hata Kenichiro, Suzuki Hisato, Kosaki Kenjiro, Matsuura Shinya, Matsubara Yoichi, Amagai Masayuki, Kubo Akiharu	4. 巻 19
2. 論文標題 Premature aging syndrome showing random chromosome number instabilities with CDC20 mutation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Aging Cell	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ace1.13251	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 富岡啓太、阿久津シルビア夏子、柳原啓見、田内広、山本卓、工藤美樹、小林正夫、宮本達雄、松浦伸也	4. 巻 73(4)
2. 論文標題 放射線感受性の遺伝的個人差を規定する候補素因としてのNBS1遺伝子I171V多型の定量的評価	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 広島医学	6. 最初と最後の頁 224-227
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 無
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 宮本達雄、藤田和将、松浦伸也	4. 巻 273(9)
2. 論文標題 ゲノム編集技術を用いた培養細胞における疾患モデリング	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 20977-20982
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 無
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 Yoshida K, Yamaoka S, Yoshida M, Nakabayashi K, Shirai R, Osumi T, Kiyotani C, Akutsu SN, Miyamoto T, Hata K, Kiyokawa N, Yoza Y, Matsumoto K, Matsuura S, Kato M	4. 巻 66
2. 論文標題 Familial rhabdomyosarcoma due to germline bi-allelic variants of BUB1B	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatric Blood & Cancer	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) 10.1002/pbc.28049	査読の有無 無
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 Akutsu Silvia Natsuko, Fujita Kazumasa, Tomioka Keita, Miyamoto Tatsuo, Matsuura Shinya	4. 巻 9
2. 論文標題 Applications of Genome Editing Technology in Research on Chromosome Aneuploidy Disorders	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 239 ~ 239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9010239	査読の有無 無
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 Miyamoto Tatsuo, Hosoba Kosuke, Itabashi Takeshi, Iwane Atsuko H, Akutsu Silvia Natsuko, Ochiai Hiroshi, Saito Yumiko, Yamamoto Takashi, Matsuura Shinya	4. 巻 -
2. 論文標題 Insufficiency of ciliary cholesterol in hereditary Zellweger syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	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) 10.15252/embj.2019103499	査読の有無 無
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 宮本達雄、藤田和将、阿久津シルビア夏子、松浦伸也	4. 巻 -
2. 論文標題 ゲノム編集 実験スタンダード「培養細胞でのゲノム編集」	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学別冊	6. 最初と最後の頁 173 ~ 183
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 無
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 Akutsu SN, Miyamoto T, Oba D, Tomioka K, Ochiai H, Ohashi H, Matsuura S	4. 巻 17
2. 論文標題 iPSC reprogramming-mediated aneuploidy correction in autosomal trisomy syndromes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 1-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0264965	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 Tomioka K, Miyamoto T, Akutsu SN, Yanagihara H, Fujita K, Royba E, Tauchi H, Yamamoto T, Koh I, Hirata E, Kudo Y, Kobayashi M, Okada S, Matsuura S	4. 巻 11
2. 論文標題 NBS1 1171V variant underlies individual differences in chromosomal radiosensitivity within human populations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-98673-7	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 該当する

1. 著者名 Miyamoto T, Hosoba K, Akutsu SN, Matsuura S	4. 巻 2374
2. 論文標題 Imaging of the Ciliary Cholesterol Underlying the Sonic Hedgehog Signal Transduction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol	6. 最初と最後の頁 49-57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1701-4_5	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 -

〔学会発表〕 計24件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 宮本達雄、細羽康介、板橋岳志、岩根敦子、阿久津シルビア夏子、落合 博、斎藤裕見子、山本 卓、松浦伸也
2. 発表標題 織毛病としてのベルオキシソーム形成不全症・Zellweger症候群
3. 学会等名 第65回日本人類遺伝学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤田 春美、佐々木 貴史、宮本 達雄、阿久津 シルビア 夏子、佐藤 尚武、森 毅彦、中林 一彦、秦 健一郎、鈴木 寿人、小崎 健次郎、松浦 伸也、松原 洋一、天谷 雅行、久保 亮治
2. 発表標題 染色体分配異常を伴う新規早老症患者におけるCDC20遺伝子変異の同定と分子病態の解析
3. 学会等名 第65回日本人類遺伝学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井坂美帆、大場大樹、小林美和、阿久津シルビア夏子、宮本達雄、松浦伸也、大橋博文
2. 発表標題 先天異常症候群集団外来：モザイク型ダウン症候群外来の報告
3. 学会等名 第65回日本人類遺伝学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮本達雄、富岡啓太、藤田和将、阿久津シルビア夏子、工藤美樹、小林正夫、岡田賢、田内広、松浦伸也
2. 発表標題 機能ゲノミックスを用いた放射線感受性個人差を規定する遺伝素因の探索
3. 学会等名 第63回日本放射線影響学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tatsuo Miyamoto, Kosuke Hosoba, Takeshi Itabashi, Atsuko H. Iwane, Silvia Natsuko Akutsu, Hiroshi Ochiai, Yumiko Saito, Takashi Yamamoto, Shinya Matsuura
2. 発表標題 Peroxisomes ensure to supply cholesterol into the ciliary membrane: a lesson from a peroxisome-biogenesis disorder Zellweger syndrome
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名	富岡啓太、Silvia Natsuko Akutsu、柳原啓見、田内 広、山本 卓、小林正夫、工藤美樹、藤田和将、宮本達雄、松浦伸也
2. 発表標題	NBS1 I171V多型による放射線感受性個人差の定量的評価
3. 学会等名	第45回中国地区放射線影響研究会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Silvia Natsuko Akutsu, Tatsuo Miyamoto, Keita Tomioka, Daiju Oba, Hirofumi Ohashi, Shinya Matsuura
2. 発表標題	iPSC reprogramming-mediated aneuploidy correction in autosomal trisomy syndromes
3. 学会等名	The 5th International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	宮本達雄、富岡啓太、阿久津シルビア夏子、小林正夫、工藤美樹、松浦伸也
2. 発表標題	放射線感受性個人差を規定する遺伝素因の探索とリスク定量
3. 学会等名	第4回放射線災害・医科学研究拠点カンファランス(広島)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	富岡啓太、阿久津シルビア夏子、柳原敬見、田内 広、山本 卓、小林正夫、工藤美樹、宮本達雄、松浦伸也
2. 発表標題	放射線感受性の遺伝的個人差を規定する候補素因としてのNBS1遺伝子 I171V多型の定量的評価
3. 学会等名	原子爆弾後障害研究会(広島)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名 阿久津シルビア夏子、落合 博、山本 卓、大橋博文、宮本達雄、松浦伸也
2. 発表標題 CRISPR-ObLiGaRe法を用いたiPS細胞における蛍光核標識によるモザイク・トリソミー21のモデル細胞系の開発
3. 学会等名 第4回日本ゲノム編集学会（東京）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akutsu SN, Ochiai H, Yamamoto T, Ohashi H, Miyamoto T, Matsuura S
2. 発表標題 The generation of mosaic trisomy 21 model cells using cells from a patient with full trisomy 21 by trisomy rescue during cell reprogramming and their modification with fluorescent nuclear markers by genome editing technique.
3. 学会等名 The 65th Brazilian Congress of Genetics (Sao Paulo)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akutsu SN, Miyamoto T, Tomioka K, Ochiai H, Yamamoto T, Ohashi H, Matsuura S
2. 発表標題 Generation of Down syndrome iPS cells tagged with fluorescence marker in chromosome 21 using genome editing technology
3. 学会等名 第64回日本人類遺伝学会（長崎）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田内 広、海野昌喜、松浦伸也、宮本達雄、鈴木啓司
2. 発表標題 DNA二重鎖切断修復を標的とした放射線治療創薬の取り組み
3. 学会等名 第62回日本放射線影響学会（京都）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富岡啓太、阿久津シルビア夏子、柳原啓見、田内 広、山本 卓、小林正夫、工藤美樹、宮本達雄、松浦伸也
2. 発表標題 NBS1遺伝子I171V多型の放射線感受性に対する定量的評価
3. 学会等名 第62回日本放射線影響学会（京都）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河村香寿美、松浦伸也、小松賢志、小林純也、鈴木啓司
2. 発表標題 ATLD細胞におけるMRN複合体形成タンパク質の発現制御メカニズム
3. 学会等名 第62回日本放射線影響学会（京都）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshida K, Yamaoka S, Yoshida M, Nakabayashi K, Shirai R, Osumi T, Kiyotani C, Akutsu SN, Miyamoto T, Hata K, Kiyokawa N, Yuza Y, Matsumoto K, Matsuura S, Kato M
2. 発表標題 BUB1Bの生殖細胞系列の両アレルバリエントによる家族性横紋筋肉腫
3. 学会等名 第61回小児血液・がん学会学術集会（広島）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富岡啓太、阿久津シルビア夏子、柳原啓見、田内 広、山本 卓、小林正夫、工藤美樹、宮本達雄、松浦伸也
2. 発表標題 放射線感受性の遺伝的個人差を規定する候補素因としてのNBS1遺伝子I171V多型の逆遺伝学的解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会（福岡）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河村香寿美、松浦伸也、小松賢志、小林純也、鈴木啓司
2. 発表標題 新規ATLD変異細胞を用いたMRN複合体形成タンパク質の発現制御メカニズムの解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会（福岡）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomika K, Fujita K, Akutsu SN, Tauchi H, Yamamoto T, Kobayashi M, Kudo Y, Miyamoto T, Matsuura S
2. 発表標題 Quantitative evaluation of the NBS1 I171V variant on radiosensitivity
3. 学会等名 The 4th International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science (Hiroshima) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 阿久津シルビア夏子、宮本達雄、富岡啓太、大場大樹、大橋博文、松浦伸也
2. 発表標題 トリソミー症候群の細胞初期化で誘導されるトリソミーレスキュー
3. 学会等名 第5回放射線災害・医科学研究拠点カンファランス
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Silvia Natsuko Akutsu, Tatsuo Miyamoto, Keita Tomioka, Daiju Oba, Hirofumi Ohashi, Shinya Matsuura
2. 発表標題 iPSC reprogramming-mediated aneuploidy correction in autosomal trisomy syndromes
3. 学会等名 第64回日本放射線影響学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Silvia Natsuko Akutsu, Tatsuo Miyamoto, Daiju Oba, Keita Tomioka, Hiroshi Ochiai, Hirofumi Ohashi, Shinya Matsuura
2. 発表標題 iPSC reprogramming-mediated random trisomy correction in aneuploidy syndromes
3. 学会等名 The 6th International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松浦伸也
2. 発表標題 ゲノム編集法を用いた放射線感受性細胞の作製と解析
3. 学会等名 第3回放射線災害・医科学研究拠点ワークショップ(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮本達雄、細羽康介、板橋岳志、岩根敦子、阿久津シルビア夏子、落合 博、斎藤裕見子、山本 卓、松浦伸也
2. 発表標題 ペルオキシソーム欠損による繊毛シグナル伝達障害の分子機構
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021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	宮本 達雄 (Miyamoto Tatsuo) (40452627)	山口大学・大学院医学系研究科・教授 (15501)	

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	阿久津 シルビア夏子 (Akutsu Silvia Natsuko) (Akutsu Silvia Natsuko) (10822299)	広島大学・原爆放射線医科学研究所・助教 (15401)	

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