

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 30 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590346

研究課題名（和文） 均衡型染色体転座は無関係な染色体の不分離を誘発するのか？

研究課題名（英文） Analysis of interchromosomal effect in human using yeast model

研究代表者

大江 瑞恵 (OHYE TAMAE)

藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・助教

研究者番号：10247661

研究成果の概要（和文）：

転座染色体をもつ保因者では、卵子や精子の形成過程で転座染色体に関連した染色体の不分離を生じ、流産や不妊の結果となる事が知られている。ところが無関係の染色体も不分離を生じることが報告されたが、転座染色体に起因するのかどうかは未解決のままである。本研究では、非ロバートソン型転座染色体をもつ酵母を作製し解析したところ、高頻度な ICE が誘発されるには、単なる転座染色体の存在だけでなく、転座切断点も一因となる可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：

The production of a high proportion of gametes with an unbalanced genetic complement is strictly related to translocations and causes an increased risk of spontaneous abortions and abnormal offspring. The chromosomal abnormalities unrelated to the translocation chromosomes were reported, and it was named as an interchromosomal effect (ICE). However, the existence of the ICE has remained a source of controversy with some studies observing such an effect, whereas others have not. In this project, I analyzed the ICE using a chromosomal translocation yeast model. As a result, the existence or magnitude of the ICE may be influenced by the characteristics of the rearrangement.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：染色体転座 不分離 酵母モデル

## 1. 研究開始当初の背景

現在、カップルの 10 組に 1 組は不妊症に悩んでいる。それらの原因には多くの因子が関与しているが、不育症においては、約 5% が本人あるいはパートナーの染色体の構造

異常が原因となっていると考えられている。染色体構造異常のなかでは、短部動原体染色体（13、14、15、21、22番染色体）のセントロメア付近で融合するロバートソン転座の頻度が高く、一般人口の 1,000

人に1人の割合で保因者が存在する。ロバートソン転座では短部動原体染色体の短腕が失われるが、重要な遺伝子はほとんど含まれていないため、保因者は無症状である。しかし、保因者の生殖細胞の形成過程における、相同染色体同士との対合の時期に、転座染色体と正常な相同染色体が対合して異常な三価染色体をつくる結果、その後の染色体不分離を引き起こし、転座染色体やその相同染色体の数が異常な配偶子を生ずる。ところが、ロバートソン転座保因者では、性染色体や21トリソミーといった転座染色体とは無関係の染色体の数の異常をもった児の出生が報告されている。その後、習慣性流産や不妊を引き起こす均衡型転座の保因者でも同様な無関係の染色体の不分離の例が報告されてきた。このように、染色体の構造異常が染色体対の不分離を障害することが発端となり、正常な減数分裂の進行が妨害され、その他の関係の無い染色体の異数性を生じることが、Interchromosomal effect (ICE) と呼んでいる。実際、転座保因者の精子中やその子孫での染色体の異数性について、複数の報告がなされている一方、ICEは存在しないとの説もあり、1963年にLejeuneによって提唱されて以来、いまだ議論の分かれている現象である。

## 2. 研究の目的

(1) 染色体転座モデル酵母を作製し、ICEの存在の有無を検証する。(2) 転座切断点の座位とICEとの関係を調べる。このように、酵母モデル生物を使った新たなアプローチにより数十年來命題であった、ICEの謎の解明への一歩となる事を目的とする。

## 3. 研究の方法

染色体転座を引き起こす為、ヒトの生殖細胞系列の染色体転座を高頻度に生じるt(11;22)に着目し、その転座切断点にあるpalindromic AT rich repeat (PATRR) 配列を出芽酵母の2つの異なった染色体上に導入し、転座モデル酵母の作製をおこなった。加えて、複数の種の転座モデル酵母を用いた。そして、試験管内で減数分裂を引き起こし、胞子について解析をおこなった。

## 4. 研究成果

PATRR配列は、non-B型DNA高次構造を形成し、DNA2本鎖切断の原因となることが考えられる。また、ヒトのPATRR配列は、塩基配列の違いから、タイプ分けされている。そこで、各タイプのPATRRを酵母の染色体に導入した。転座切断点を特異的に増幅するPCRをおこない、完全なパリンδροーム配列を導入した酵母では、転座が生じていることを確認することができた。さらに、転

座の発生メカニズムを調べる為、組換え反応に関与する分子の変異体を作製したところ、単なる相同組換えや非同相組換えではないことが解った。

転座切断点の位置は、第一減数分裂時の相同染色体間での対合のしやすさに影響すると考えられる。転座切断点異なる複数種の酵母について、窒素源を枯渇させることにより減数分裂を誘導し、その胞子の解析をおこなった。胞子形成能の比較では、一部では変化がなかったが、多くは低下しており、胞子形成にそれぞれの転座染色体が影響していた。次に、胞子形成の進行と染色体の不分離への影響を調べる為、条件を変化させたが、顕著な変化はみられなかった。そして、形成された胞子の中には転座染色体やその関連の元の染色体の数の異常と考えられるものがみられたが、今回、調べた染色体については、ICEが明らかに誘発されているとはいえなかった。これらの結果により、非ロバートソン型転座モデルでは、想定される頻度でのICEは生じてはいないが、個々の染色体再構成は影響している可能性が考えられた。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計13件)

- ① Kurahashi, H., Tsutsumi, M., Nishiyama, S., Kogo, H., Inagaki, H., Ohye, T. (2012) Molecular basis of maternal age-related increase in oocyte aneuploidy. *Congenit. Anom.*, 52, 8-15. 査読無
- ② Kurahashi, H., Ohye, T., Inagaki, H., Kogo, H., Tsutsumi, M. (2012) Mechanism of complex gross chromosomal rearrangements: a commentary on concomitant microduplications of MECP2 and ATRX in male patients with severe mental retardation. *J. Hum. Genet.*, 57, 81-83. 査読無
- ③ Tsutsumi, M., Kogo, H., Kowa-Sugiyama, H., Inagaki, H., Ohye, T., Kurahashi, H. (2011) Characterization of a novel mouse gene encoding an SYCP3-like protein that relocalizes from the XY Body to the nucleolus during prophase of male meiosis. *I. Biol. Reprod.*, 85, 165-171. 査読有
- ④ Kato, T., Inagaki, H., Tong, M., Kogo, H., Ohye, T., Yamada, K., Tsutsumi, M.,

- Emanuel, B. S., Kurahashi, H. (2011) DNA secondary structure is influenced by genetic variation and alters susceptibility to *de novo* translocation. *Mol. Cytogenet.*, 4, 18. 査読有
- ⑤ Ohye, T., Inagaki, H., Kogo, H., Tsutsumi, M., Kato, T., Tong, M., Macville, M. V. E., Medne, L., Zackai, E. H., Emanuel, B. S., Kurahashi, K. (2010) Paternal origin of the *de novo* constitutional t(11;22)(q23;q11). *Eur. J. Hum. Genet.*, 18, 783-787. 査読有
- ⑥ Kogo, H., Kowa-Sugiyama, H., Yamada, K., Bolor, H., Tsutsumi, M., Ohye, T., Inagaki, H., Taniguchi, M., Toda, T., Kurahashi, H. (2010) Screening of genes involved in chromosome segregation during meiosis I: towards the identification of genes responsible for infertility in humans. *J. Hum. Genet.*, 55, 293-299. 査読有
- ⑦ Tong, M., Kato, T., Yamada, K., Inagaki, H., Kogo, H., Ohye, T., Tsutsumi, M., Wang, J., Emanuel, B. S., Kurahashi, H. (2010) Polymorphisms of the 22q11.2 breakpoint region influence the frequency of *de novo* constitutional t(11;22)s in sperm. *Hum. Mol. Genet.*, 19, 2630-2637. 査読有
- ⑧ Kurahashi, H., Inagaki, H., Ohye, T., Kogo, H., Tsutsumi, M., Kato, T., Emanuel, B. S. (2010) The constitutional t(11;22): implications for a novel mechanism responsible for gross chromosomal rearrangements. *Clin. Genet.*, 78, 299-309. 査読無
- ⑨ 大江瑞恵, Liviya Medne, Beverly S. Emanuel, 倉橋浩樹、(2010) 絨毛検査で偶然見つかり切断点の解析を必要とした胎児 t(11;22) 新生転座、遺伝カウンセリング学会誌、31 巻、169-173. 査読有
- ⑩ Kurahashi, H., Inagaki, H., Kato, T., Hosoba, E., Kogo, H., Ohye, T., Tsutsumi, M., Bolor, H., Tong, M., Emanuel, B. S. (2009) Impaired DNA replication prompts deletions within palindromic sequences, but does not induce translocations in human cells. *Hum. Mol. Genet.*, 18, 3397-3406. 査読有
- ⑪ Kurahashi, H., Bolor, H., Kato, T., Kogo, H., Tsutsumi, M., Inagaki, H., Ohye, T. (2009) Recent advance in our understanding of the molecular nature of chromosomal abnormalities. *J. Hum. Genet.*, 54, 253-260. 査読無
- ⑫ Bolor, H., Mori, T., Nishiyama, S., Ito, Y., Hosoba, E., Inagaki, H., Kogo, H., Ohye, T., Tsutsumi, M., Kato, T., Tong, M., Nishizawa, H., Pryor-Koishi, K., Kitaoka, E., Sawada, T., Nishiyama, Y., Udagawa, Y., Kurahashi, H. (2009) Mutations of the SYCP3 gene in women with recurrent pregnancy loss. *Am. J. Hum. Genet.*, 84, 14-20. 査読有
- ⑬ Inagaki, H., Ohye, T., Kogo, H., Kato, T., Bolor, H., Taniguchi, M., Shaikh, T. H., Emanuel, B. S., Kurahashi, H. (2009) Chromosomal instability mediated by non-B DNA: cruciform conformation and not DNA sequence is responsible for recurrent translocation in humans. *Genome. Res.*, 19, 191-198. 査読有

[学会発表] (計 38 件)

- ① Ohye, T., Analysis of paternal uniparental disomy of chromosome 9 with supernumerary ring chromosome. 第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 14 日、横浜.
- ② 倉橋浩樹、対合不全のチェックポイントの男女間の違いと不妊・習慣流産、文部科学省 科学研究費補助金 特定領域研究特定領域研究「生殖系列の世代サイクルとエピゲノムネットワーク」第 4 回公開シンポジウム、2011 年 11 月 17-18 日、豊中.
- ③ 大江瑞恵、母由来 9 番過剰リング染色体をともなった 9 番染色体父性ダイソミー、第 56 回日本人類遺伝学会・第 11 回東アジア人類遺伝学会 共同大会、2011 年 11 月 10 日、千葉.
- ④ Ohye, T., Identification of a recombination hotspot sequence at the breakpoint region of the 22q11 deletion using a yeast model. 12th International Congress of Human Genetics, 2011, October, 13, Montreal, Canada.
- ⑤ 大江瑞恵、母由来 9 番過剰マーカー染色体をともなった 9 番染色体父性ダイソミーの 1 例、第 34 回日本小児遺伝学会 学術集会、2011 年 8 月 11 日、横浜.
- ⑥ 大江瑞恵、家族性甲状腺髄様癌患者でみられる S891A 変異により、非典型症状の副腎褐色細胞腫が初発症状となった 1 例、遺伝医学合同学術集会、2011 年 6

- 月 18 日、京都.
- ⑦ 大江瑞恵、酵母におけるパリンドロームを介した染色体転座の発生メカニズム、第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会、2010 年 12 月 7 日、神戸.
- ⑧ 大江瑞恵、一般集団における t(11;22)(q23;q11) 均衡型転座保因者数およびエマヌエル症候群患者数推定の試み、日本人類遺伝学会 第 55 回大会、2010 年 10 月 30 日、大宮.
- ⑨ Ohye, T., Paternal origin of the *de novo* constitutional t(11;22)(q23;q11), European Human Genetics Conference, 2010, June, 15, Gothenburg, Sweden.
- ⑩ 大江瑞恵、絨毛検査で偶然見つかかり切断点の解析を必要とした胎児 t(11;22) 新生転座、第 34 回遺伝カウンセリング学会、2010 年 5 月 29 日、東京.
- ⑪ 大江瑞恵、絨毛検査で偶然見つかかり切断点の解析を必要とした胎児 t(11;22) 新生転座、中部出生前研究会、2010 年 3 月 13 日、名古屋.
- ⑫ Ohye, T., Parental origin of *de novo* t(11;22)(q23;q11). 59<sup>th</sup> annual meeting of American Society of Human Genetics, 2009, October, 21, Hawaii, USA.
- ⑬ Kurahashi, H., Mutations of the SYCP3 gene in women with recurrent pregnancy loss. European Human Genetics Conferences, 2009, May, 25, Austria.
- ⑭ Ohye, T., Identification of recombination hotspot at the breakpoints of 22q11 deletion using yeast model. 第 32 回日本分子生物学会年会、2009 年 12 月 12 日、横浜.
- ⑮ 大江瑞恵、酵母モデルを利用した 22q11 欠失切断点にある高頻度組換え配列の同定、第 54 回日本人類遺伝学会、2009 年 9 月 24 日、東京.
- ⑯ 大江瑞恵、遺伝カウンセリング、遺伝子染色体検査研究班例会、2009 年 7 月 11 日、名古屋.

他 22 件

[図書] (計 4 件)

- ① 大江瑞恵、倉橋浩樹、メディカルドゥ、生殖細胞系列の細胞分裂-体細胞分裂と減数分裂の違い、遺伝カウンセリングハンドブック、2011、2.
- ② 西山幸江、西澤春紀、大江瑞恵、宇田川康博、倉橋浩樹、金原出版、産婦人科臨

床で扱われる染色体異常、産婦人科の実際、2011、1277-1285.

- ③ 大江瑞恵、倉橋浩樹、金原出版、エマヌエル症候群の臨床像と遺伝、小児科、2010、8.
- ④ 倉橋浩樹、大江瑞恵、ボロル・ハスパイラ、加藤武馬、東京医学社、ここまでわかった染色体異常症の発生メカニズム、小児内科、2009、919-924.

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大江 瑞恵 (OHYE TAMAE)  
藤田保健衛生大学・総合医科学研究所  
・助教  
研究者番号：10247661

### (2) 研究分担者

倉橋 浩樹 (KURAHASHI HIROKI)  
藤田保健衛生大学・総合医科学研究所  
・教授  
研究者番号：30243215

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：