

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19551

研究課題名（和文）母子ペアゲノム配列情報に基づく非自己バリエーションの妊娠アウトカムに対する意義

研究課題名（英文）The significance of non-self-variant pregnancy outcomes based on mother-child pair genome sequence information

研究代表者

碓井 宏和（Usui, Hirokazu）

千葉大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：90375634

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：東北メディカル・メガバンク機構の三世代コホート母子ペアゲノム塩基配列情報全ゲノムシーケンスデータから、母が非自己と認識しうる非自己バリエーションを母子ペア毎に抽出した。母子ペア毎の非自己バリエーションは100以下であった。妊娠高血圧を発症した群と発症していない群で胎盤特異的非同義バリエーションの差は明らかでなかった。非自己バリエーションの意義を検証するために、母が実際に非自己と認識しているかを検証する必要が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

母が自らとは異なる配列を有する非自己バリエーション蛋白が胎盤に存在する可能性がゲノム塩基配列レベルで推定された。妊娠アウトカムに対する評価を行うには、評価する症例ペアを増やし、胎盤での両アレル性の発現、非自己バリエーション蛋白の立体構造予測、非自己バリエーション蛋白に対する抗体を母が有しているかなどの検討が必要であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The whole genome sequences data of Tohoku Medical Megabank Project Birth and Three-Generation Cohort Study (TMM BirThree Cohort Study) were analyzed. Non-self variants recognizable by the mother were extracted for each parental-child pair. The number of non-self variants per parental-child pair was less than or equal to 100. There was no apparent difference in placenta-specific synonymous variants between the group with gestational hypertension and the group without gestational hypertension. In order to verify the significance of non-self variants, it was deemed necessary to verify whether the mother actually recognizes non-self.

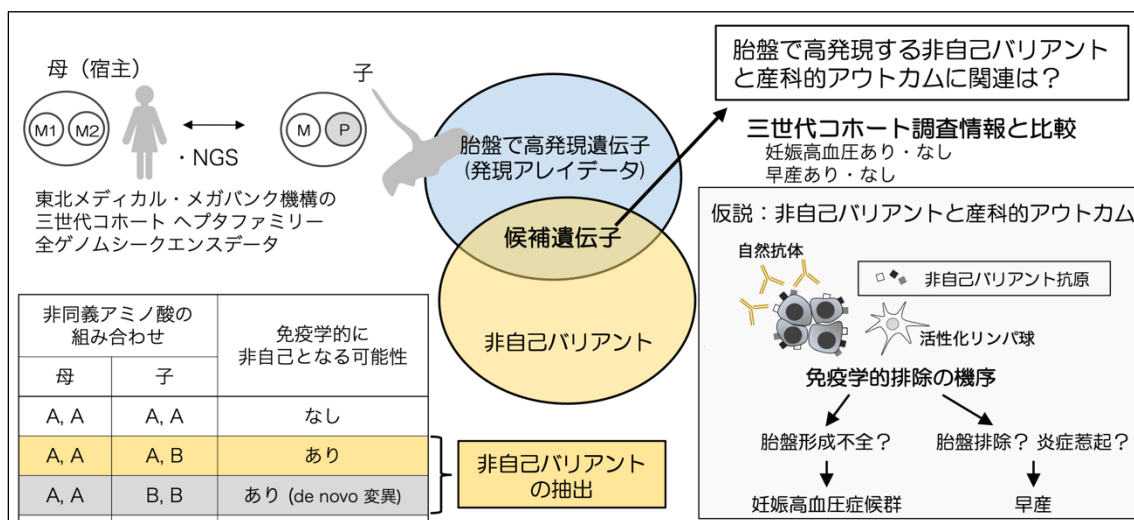
研究分野：産婦人科

キーワード：妊娠 胎盤 非自己バリエーション 三世代コホート 東北メディカル・メガバンク

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胎盤は、母に対して免疫学的にはセミアログラフトであるが、拒絶を受けない。移植免疫に重要な分子である HLA-A, HLA-B, HLA-DR や ABO 血液型抗原がトロホプラストで発現しないなどのしくみにより拒絶が回避されていることが知られている。最近の次世代シーケンサーによる全ゲノムレベルでの解析の結果から、ヒトゲノムには多数のバリエーション (多型・変異) が存在していることが明らかにされてきた。アミノ酸配列置換が起こる変化 (非同義バリエーション) に限っても、個体平均で 10,000 カ所程度存在するとされる。母と胎盤でアミノ酸配列が異なるバリエーション (本研究では非自己バリエーションと呼ぶ) 場合、免疫学的に非自己と認識され得る。応募者らの preliminary なデータ解析からは、胎盤で高発現な遺伝子に絞り込むと約 100 遺伝子が非自己と見なされる。今回新たに提唱した非自己バリエーションパラメーターは、胎盤における免疫反応に関係し、産科的アウトカム (妊娠高血圧症候群など) に寄与する可能性があると考えた。



2. 研究の目的

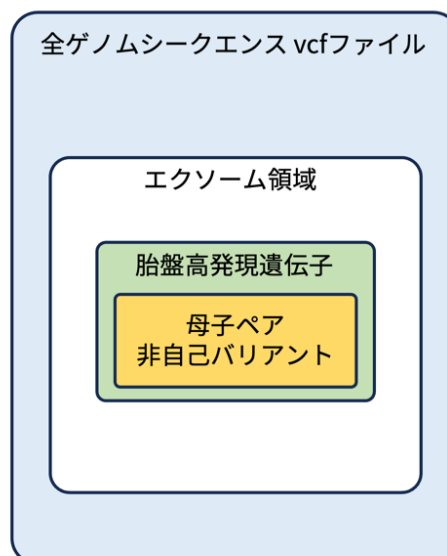
胎盤で高発現する非自己バリエーション (群) を同定し、産科的アウトカムとの関連を探索する。妊娠・分娩における非自己バリエーションの意義を検証することを目的とする。

3. 研究の方法

1) 千葉大学および東北メディカル・メガバンク機構における倫理申請を行い、研究の承認を受ける。2) 東北メディカル・メガバンクの母子ペアの全エクソームシーケンズデータをもとに、ヒトゲノム標準塩基配列に対する非同義バリエーションを抽出する。母・子の非同義バリエーションを比較して、非自己バリエーションを選択する。3) 応募者らが現有している胎盤高発現な遺伝子群の情報と合わせて胎盤で高発現する非自己バリエーション (群) を同定する。4) 三世代コホート調査の産科的アウトカムとの比較により非自己バリエーションパラメーターの意義を検証する。

4. 研究成果

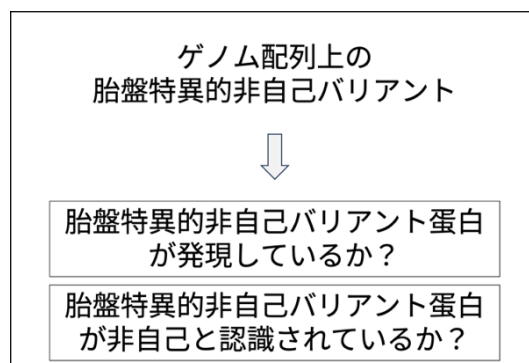
倫理委員会の承認 (研究番号 2020-0033, 研究課題名 三世代コホート母子ペアゲノム塩基配列情報に基づく非自己バリエーションの妊娠アウトカムに対する意義) のもと、母子ペアで研究資料および研究情報の分譲に関する契約書を締結し、遠隔セキュリティエリア (共用端末室) で研究を行った。東北メディカル・メガバンク機構の三世代コホートヘプタファミリーベースライン調査 1K (2.4.0 三世代コホートヘプタファミリー (TMM BirThree HeptaFamily) の中で、母子ペアの全ゲノムシーケンズデータが存在する例の健康調査情報と全ゲノム解析情報の情報分譲を受けた (317 名分)。全ゲノム情報は vcf ファイルとして提供を受けた。これらの情報から、1) 母子のペアを抽出した。



2) 母が子の妊娠中に妊娠高血圧症候群であった症例を確認したところ2例であった。3) 全ゲノムのバリエーションデータから、エクソーム領域(coding sequence)のデータを抽出した。4) 同義バリエーション以外のバリエーション、すなわち非同義バリエーション (de novo バリエーション、ヌルバリエーション、ミスセンスバリエーション) を抽出した。母が胎盤(子)を非自己と認識しうる可能性のあるアミノ酸変異の組み合わせには、4通り存在する。①母ワイルドで子がヘテロ、②母が変異ホモで子がヘテロ、③母がワイルドで子が変異ホモ、④母が変異ホモで子がワイルドの組み合わせが考えられる。③と④は、母がコピー数が「1」であるか、子が母由来のコピーを de novo で脱落したかいずれかのイベントの仮定が必要である。①と②の非同義ローカスを、子ヘテロかつ母ホモの組み合わせでスクリーニングを行った。③と④の非同義ローカスは母ワイルド型子変異ホモ、母変異ホモ子野生型の組み合わせでスクリーニングを行った。

| | | 母 | 母 | 母 |
|---------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | Wild | Hetero | Homo variant |
| | | HIRKAA HIRKAA | HIRKAA HISKAA | HISKAA HISKAA |
| 子Wild | HIRKAA HIRKAA | self | self | ④NA/ de novo |
| 子Hetero | HIRKAA HISKAA | ①非自己1類 | self | ②非自己2類 |
| 子Homo variant | HISKAA HISKAA | ③NA/ de novo | self | self |

さらに、5) 胎盤で高発現していると考えられる非同義バリエーションを抽出した。これらの胎盤特異的非自己バリエーションの分布・量・特徴を調査した。母子ペア毎の非自己バリエーションは、すべての母子ペアで 100 以下であった。6) 妊娠高血圧を発症した群と発症していない群で胎盤特異的非同義バリエーションの差は現在までのところ認められていない。またゲノムレベルでは、非自己バリエーションは存在するが、蛋白・免疫応答レベルで「非自己バリエーション」現象が起こっているかが課題と考えられた。



検証すべき課題として、1) 母が実際に非自己バリエーションを有する胎盤発現蛋白質を非自己と認識しているかを検証する必要がある。2) 非自己バリエーション蛋白が、両アレル性発現の喪失のため非自己と認識されない可能性がないか確認する必要がある。3) 非自己バリエーション蛋白質と標準蛋白質の立体構造予測、4) 非自己バリエーション蛋白質に対する抗体を母が有しているかが具体的な課題と考えられた。

<引用文献>

- ① Kuriyama S et al. Cohort Profile: Tohoku Medical Megabank Project Birth and Three-Generation Cohort Study (TMM BirThree Cohort Study): rationale, progress and perspective. *Int J Epidemiol* 2020;49(1):18-19m. doi: 10.1093/ije/dyz169
- ② Tadaka S et al. 3.5KJPNv2: an allele frequency panel of 3552 Japanese individuals including the X chromosome. *Hum Genome Var* 2019;6:28. doi: 10.1038/s41439-019-0059-5

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Usui, H. | 4. 巻 99E |
| 2. 論文標題 Developmental mechanism of hydatidiform moles based on DNA polymorphism analysis | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Chiba Medical J | 6. 最初と最後の頁 1-7 |
| 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 オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Usui Hirokazu | 4. 巻 48 |
| 2. 論文標題 Auxiliary and experimental diagnostic techniques for hydatidiform moles | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research | 6. 最初と最後の頁 3077 ~ 3086 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jog.15422 | 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 碓井宏和 中村名律子 片山恵里 佐藤明日香 | 4. 巻 72 |
| 2. 論文標題 絨毛癌/high risk GTNの診断と治療 | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 産婦人科の実際 | 6. 最初と最後の頁 145-151 |
| 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 - |
| 1. 著者名 佐藤明日香 碓井宏和 | 4. 巻 72 |
| 2. 論文標題 胞状奇胎発症機序についての最新知見～遺伝子変異と生殖補助医療の観点より | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 産婦人科の実際 | 6. 最初と最後の頁 165-170 |
| 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 - |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

| |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名 碓井宏和 |
| 2. 発表標題 胞状奇胎の補助的診断法 |
| 3. 学会等名 第55回日本婦人科病理学会学術集会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---------------------------------|
| 1. 発表者名 碓井宏和 |
| 2. 発表標題 絨毛性腫瘍治療：世界の潮流 |
| 3. 学会等名 第39回日本絨毛性疾患研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Usui H. |
| 2. 発表標題 Parental contribution to trisomy in heterozygous androgenetic complete moles |
| 3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会 |
| 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 | 中田 恵美里 (Nakada Emiri) (30447289) | 千葉大学・大学院医学研究院・助教 (12501) | |

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 | 羽生 裕二 (Habu Yuji) (40816162) | 千葉大学・医学部附属病院・助教 (12501) | |
| 研究 分 担 者 | 佐藤 明日香 (Sato Asuka) (60779859) | 千葉大学・医学部附属病院・助教 (12501) | |

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 |
|---------|---------|
| | |