

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 22 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860255

研究課題名(和文) ヒト卵形成時に発生する染色体不分離の加齢依存性増加機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of the age-related increase of the chromosomal segregation errors during oogenesis in humans

研究代表者

堤 真紀子 (TSUTSUMI, Makiko)

藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・助教

研究者番号：30377907

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトでは母親の加齢により卵由来の染色体数の異常が増加し、このことはダウン症児の出生や一部の流産の原因となることが知られている。本研究課題では染色体数の異常が起こるのは、加齢により卵における細胞分裂時の染色体分離に関わるタンパク質、コヒーシンが減少するためであると考え、実際のヒトの卵母細胞におけるコヒーシンの量に加齢による変化があるかどうか解析を試みた。その結果、20歳代と比較して40歳代では減数分裂特異的コヒーシンが有意に減少していた。コヒーシンの減少に伴い染色体間の接着が弱まり、染色体の分離異常が発生して、染色体数が異常な卵が増加すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In humans, age-related increase of aneuploidy in oocytes is known as one of the causes of the birth of offspring with Down's syndrome or miscarriage. It has been suggested that the decrease of the molecules, cohesins, involving chromosome segregation in meiosis contributes aneuploidy. To verify this hypothesis, in this study, I examined the amount of cohesins in human oocytes on the ovarian tissue sections. It was demonstrated that meiosis-specific cohesin subunits significantly decreased in women in their 40s compared to around 20 years old. These results suggest that the decrease of meiotic cohesins impairs the sister chromatid cohesion with age to induce segregation error, and aneuploid oocytes are formed.

研究分野：分子生物学

キーワード：減数分裂 卵母細胞 高齢出産 不妊症 習慣流産

1. 研究開始当初の背景

1) 母親の加齢依存的な染色体不分離の増加
染色体異数性(トリソミー、モノソミーなど)は減数分裂時の配偶子への染色体の均等な分配の失敗(染色体不分離)が主な原因である。

母親の年齢が35歳を過ぎると、トリソミーの発生率が指数関数的に増加する。

染色体不分離は流産の原因の50%以上の割合を占める。

これらの現象は人種や生活習慣等に関わらず全ての人類に共通して見られる。昨今の晩婚化や女性の社会進出が増えるに伴い、女性の出産年齢が高齢化している。また、少子化が重大な社会問題となっており、少子化対策の一環として生殖医療に対する期待や要望はますます高まっている。しかし、現代の医学では不分離の予防法はないとされている。なぜならその加齢依存的な発生メカニズムが解明されていないからである。

(2) 第一減数分裂時の染色体不分離

ヒトのトリソミーの多くは母親の卵母細胞での第一減数分裂の不分離に由来する。

女性の減数分裂は胎児期に開始し、相同染色体の対合、交叉を経て出生までにdictyate期と呼ばれる10~15年、あるいは最大40~45年の休眠期に入る。そして思春期以降の排卵に伴い減数分裂が再開するまで二価染色体の状態とどまる。

Dictyate期の二価染色体はキアズマ(相同染色体間の交叉部位)とコヒーシンの姉妹染色分体間のコヒージョンによって繋ぎとめられており、この構造は第一分裂中期の紡錘系による双方向からの引力を受けとめるのに必須である。

コヒーシンサブユニットの1つSMC1beta欠損マウスはメスでコヒージョンが早期に失われて加齢依存性第一減数分裂不分離を示す。これはキアズマが解消されたために相同染色体が誤って同じ紡錘体極に移動した結果である。

遺伝子操作マウスの研究結果より、卵母細胞のコヒーシンの量は胎生期以降は新たに補充されないことが示唆されている。

以上のことから、ヒトでは長いdictyate期の中にコヒージョンが劣化し不分離になるという仮説が提唱されている。しかし実際のヒト加齢卵母細胞でのコヒージョン状態は明らかにされていない。これは従来の手法による解析では困難であったためと考えられる。

2. 研究の目的

加齢に依存した染色体不分離の発生機構を理解するため、本研究課題ではヒト成人の卵母細胞のコヒーシン分子の局在と量を明らかにし、これらの年齢による違いを比較する。予想される結果として、加齢に伴いコヒーシンが減少すると考えられる。

結果が予想通りならば、染色体不分離の発生機構として、加齢によるコヒーシンの減少のためコヒージョンが弱まりキアズマの位置がテロメア側に移動した末、相同染色体が時期尚早に分離し、娘細胞への均等な分配が妨げられるのではないかと考えられる。

以上のことから加齢依存性の染色体不分離の原因の一つが明らかとなり、近年増加傾向にある高齢女性の不妊症や流産の発症機序を理解するための基礎医学に貢献することが期待される。

2013年より始まった新型出生前診断がこの分野の大きな話題となっており、本研究も非常に注目される中で研究をおこなった。

3. 研究の方法

(1) 材料

試料: マウス(2ヶ月齢、10ヶ月齢)およびヒトの女性(40歳代まで)の卵巣組織(インフォームドコンセントのうえ入手した、卵巣腫瘍摘出手術検体の正常部)。

試薬: マウスおよびヒトの減数分裂特異的コヒーシン(SMC1B, REC8)に対する抗体を作製してコヒーシンの検出に用いた。体細胞型コヒーシン(SMC1A, RAD21, SMC3)、卵母細胞マーカー(c-Kit)に対する抗体、および蛍光標識二次抗体は購入した。

(2) 方法

組織切片上の卵母細胞のコヒーシンの量を量るため、卵巣組織片から切片を作製し、抗コヒーシン抗体で蛍光免疫染色をおこなった。原始~一次卵胞内の卵母細胞を蛍光顕微鏡で観察し、画像を取得した。免疫染色の蛍光強度を画像解析により求め、コヒーシンの量を定量した。

4. 研究成果

ヒトでは若年齢群(10-20歳代)と比較して、高年齢群(40歳代)ではSMC1B, REC8の量が有意に減少していた($P < 0.01$) (図1と2)。このことから加齢によりコヒーシンが現象し姉妹染色分体間の接着が劣化して、染色体の分離異常が増加すると考えられる。従って、母親の加齢に伴う卵の染色体異数性の増加は、減数分裂特異的コヒーシンの減少が原因の一つであることが示唆された。

一方、意外なことにヒトよりもずっと寿命が短いマウスでも2ヶ月齢に比べて10ヶ月齢では減数分裂特異的コヒーシンの量が減少していた。マウスもメスの加齢により産仔数が減少するが、このことが関係している可能性がある。

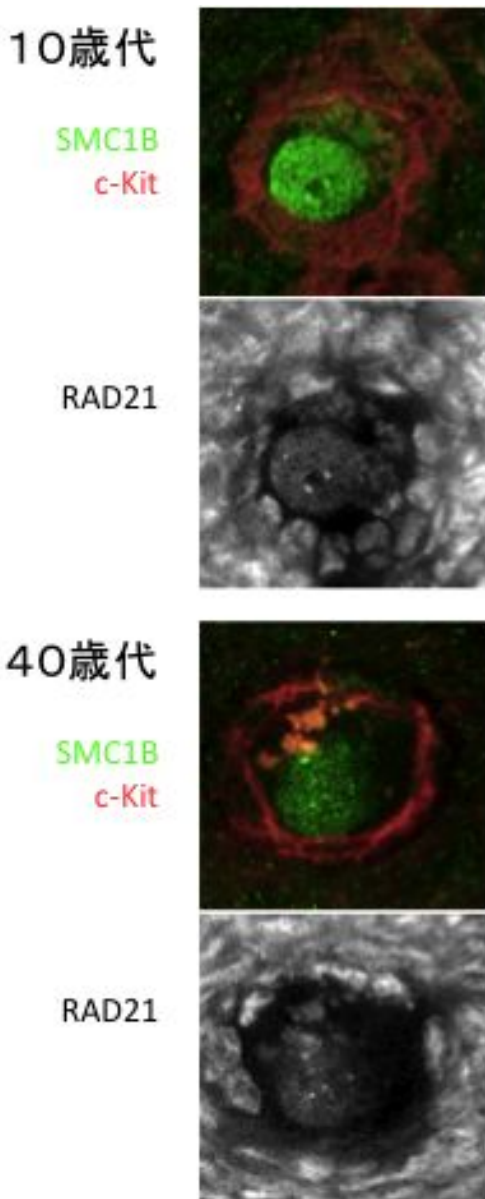


図1 ヒト卵母細胞コヒーシンの免疫染色。卵母細胞の核に SMC1B が局在している。

ヒトとマウスの違いとして、SMC1B の体細胞型サブユニットである SMC1A はマウスの卵母細胞にはほとんど無かったが、ヒトでは検出されたことが挙げられる。減数分裂型コヒーシンと体細胞型コヒーシンの共同作用が、ヒトで数十年もの間、染色体間の接着が維持される一因と考えられる。体細胞型コヒーシンは出生後もターンオーバーするが、複製と運動していないため姉妹染色体同士を束ねる効率が悪いと予想され、最終的にこれらの接着が劣化して、異数性が増加すると考えられる。

コヒーシンの減少を防ぐ方法が開発され

れば、将来的に高齢妊娠の染色体異数性の発生リスクを軽減できると期待される。また、コヒーシン遺伝子をターゲットにした個人ゲノム解析により、異数性を起こしやすい人とそうでない人が判明し、リスク算定に役立つ可能性がある。

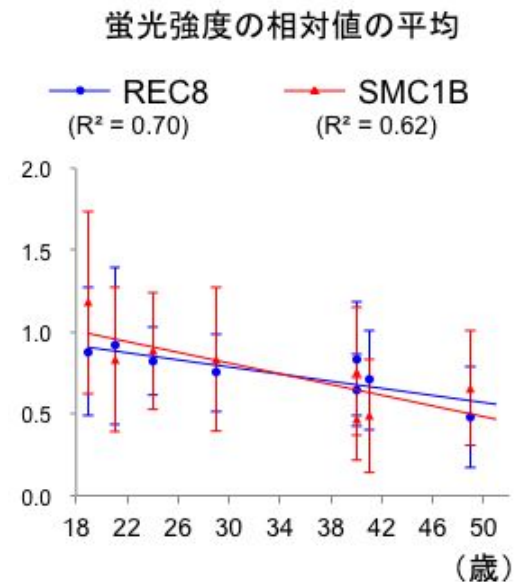


図2 ヒトの年齢と、コヒーシンシグナル強度の相対値の平均。減数分裂特異的コヒーシンは加齢により減少している。

本研究成果は第46回藤田学園医学会において奨励賞を受賞した。また、テレビや全国紙で報道された。

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1件)

Tsutsumi M, Fujiwara R, Nishizawa H, Ito M, Kogo H, Inagaki H, Ohye T, Kato T, Fujii T, Kurahashi H.

Age-related decrease of meiotic cohesins in human oocytes. PLoS ONE, 査読有、9巻、2014、e96710

DOI: 10.1371/journal.pone.0096710

〔学会発表〕(計5件)

堤真紀子

ヒト卵母細胞における染色体分離異常の加齢依存性増加機構. 第46回藤田学園医学会、2014年10月2日~2014年10月3日、藤田保健衛生大学(愛知県・豊明市)

Tsutsumi M

Decrease of meiotic cohesins with maternal age in human oocytes. 2014年ヨーロッパ人類遺伝学会、2014年5月31日~2014年6月3日、ミラノ(イタリア)

堤真紀子

Mechanism of age-related increase of chromosome segregation error in human oocytes. 第36回日本分子生物学会年会、2013年12月3日～2013年12月6日、神戸国際会議場・神戸国際展示場・神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

堤真紀子

ヒト卵母細胞における加齢依存性染色体分離異常の発生機構. 日本人類遺伝学会第58回大会、2013年11月21日～2013年11月23日、江陽グランドホテル(宮城県・仙台市)

Tsutsumi M

Age-related decrease of meiotic cohesins in human oocytes. アメリカ人類遺伝学会第63回大会、2013年10月22日～2013年10月26日、ボストン(アメリカ)

[その他]

報道関連情報

NHK ニュース東海版 平成26年5月8日放送

朝日新聞 平成26年5月8日夕刊掲載
中日新聞 平成26年5月8日夕刊掲載
日経新聞 平成26年5月8日夕刊掲載
毎日新聞 平成26年5月8日夕刊掲載
読売新聞 平成26年5月9日朝刊掲載

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堤 真紀子 (TSUTSUMI, Makiko)
藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・助教
研究者番号: 30377907