

令和元年6月8日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08334

研究課題名（和文）均衡型相互転座モデルが解明する減数分裂の制御機構とそれに関わるエピゲノムの性差

研究課題名（英文）Meiotic regulation and its epigenetic analyses of male-female differences using model mice carrying a balanced reciprocal translocation

研究代表者

堤 真紀子（Tsutsumi, Makiko）

藤田医科大学・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） 3,800,000円

研究成果の概要（和文）：均衡型相互転座の保因者は、男性の場合多くは無精子症あるいは乏精子症による不妊となる。一方、女性の場合は不妊ではなく習慣流産となる。このような性差が生じるメカニズムは十分に理解されていない。本研究では転座モデルマウスを用いて減数分裂過程について転座の影響やその性差を解析した。オスでは精母細胞で転座染色体が部分的な非対合部位を持つ性染色体と共局在し、エピジェネティック修飾の変化によりその異常な遺伝子発現を引き起こすために細胞死し、不妊になることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

均衡型相互転座の保因者は650人に1人という比較的高頻度で見られる。本研究では遺伝的バックグラウンドの異なる2種類の転座モデルマウスを解析することにより、それぞれの減数分裂時のクロマチン動態やエピジェネティック修飾を明らかにすると共に、妊孕性との関係を理解する手がかりを得た。このことは生殖問題に直面する転座保因者のより正確なリスク算定を将来行うのに役立つと期待される。

研究成果の概要（英文）：Male carriers of balanced reciprocal translocation are often sterile due to azoospermia or oligozoospermia. While female carriers undergo recurrent miscarriages. The sexual dimorphism in the gametogenesis process is considered as a main contributing factor of these sex differences. However, it has not been fully elucidated yet. In this study, the meiotic processes were analyzed using a reciprocal translocation mouse model. Male model mice had apoptotic cells at the pachytene and the metaphase stages. Spermatocyte spreads showed that the derivative chromosomes were defective in synapsis and often co-localized with the XY body. Immunofluorescence analysis indicated meiotic sex chromosome inactivation (MSCI) failure in these cells, leading to spermatogenic arrest. These results suggest MSCI failure is a cause of sterility of male carriers.

研究分野：分子生物学

キーワード：均衡型染色体相互転座 減数分裂 不妊 習慣流産

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

異なる染色体間で染色体の一部が互いに入れ替わっていることを均衡型相互転座という。均衡型相互転座の保因者は650人に1人という比較的高頻度で見られる。保因者は遺伝子の情報量に過不足が無い、無症状であるが、不妊や習慣流産を呈する。習慣流産は減数分裂の結果、卵の染色体が不均衡型転座を持つことにより、胎児染色体に発生異常の原因となる不均衡(部分モノソミー、部分トリソミー)が生じるために起こる。これらの表現型には男女差がある。男性の場合、多くは無精子症あるいは乏精子症による不妊となる。一方、女性の場合には不妊ではなく習慣流産となる。この違いは精子や卵の形成過程における減数分裂の制御機構の性差に起因すると考えられているが、その実体は明らかにされていない。

転座染色体は減数分裂時の相同染色体間の対合に異常をきたす。全ての染色体領域が対合するためにしばしば2本の転座染色体と2本の正常染色体が対合して四価染色体が形成される。四価染色体の第一分裂での分離形式によっては染色体の部分的なコピー数の不均衡が生じる。また四価染色体に非対合部位が残りやすい。

非対合部位は不活化して転写が抑制される。この現象はMSUC (meiotic silencing of unsynapsed chromatin)と呼ばれる。MSUCは第一減数分裂前期のパキテン期のオス特異的な染色体領域(XY-body)でも起こり、これを特にMSCI (meiotic sex chromosome inactivation)と呼ぶ。MSCIは性染色体の大部分を占める非対合部位が不活化されたものである。MSUC/MSCIはヒストンがリン酸化やメチル化などのエピジェネティック修飾を受けて転写抑制されている。

これまでの精母細胞の細胞学的解析で、転座染色体を持つとパキテン期あるいは分裂中期でアポトーシスが起きることが知られている。また転座染色体の非対合部位がXY-bodyと連結することも示されている。パキテン期のアポトーシスが引き起こされる原因として、「この連結がMSCIに干渉するため」、あるいは「転座染色体が不活化されて生存に必要な遺伝子発現が抑制されるため」などと考えられている。一方で、「XY-bodyとの連結によって対合のチェックポイントを免れる」、「遺伝子発現の抑制はアポトーシスを引き起こさない」とも言われており、雄特有の細胞死の原因を理解するには未だに至っていない。

2. 研究の目的

本研究では均衡型相互転座のマウスモデルを用いて減数分裂時の転座染色体の挙動を解析し、不妊や習慣流産といった雌雄の違いをもたらす分子機構を明らかにする。特にXY-bodyとMSUCに注目し、表現型との関係を遺伝的背景の影響も含めて解析する。

これまでの減数分裂遺伝子のノックアウトマウスの解析結果から、減数分裂の雌雄差はチェックポイントの強さの違いによることが推察されている。しかしこれらは遺伝子に欠陥があるため、その分子メカニズムの実態が十分に反映されているとは言えない。その点、転座マウスを使用すれば、遺伝子は正常なので、健康人の性差を理解するのに役立つ。転座マウスという特殊な研究材料を用いた研究で得られる新たな知見は、生殖細胞形成過程で雌雄が受けるエピジェネティックな制御の違いに対する理解を深めると共に、生殖問題に直面する転座保因者のリスク算定に役立つことも期待される。

3. 研究の方法

転座染色体をホモに持つマウス系統CBA/CaH-T(14;15)6Ca(略称T6)と核型野生型のマウス系統(CBAあるいはB10)を交配し、転座染色体をヘテロで持つ「転座マウス」を作出した。この転座マウスを均衡型相互転座の保因者モデルとして解析に用いた。転座マウスをT6と掛け合わせるによる妊孕性の評価、および精巢を用いた組織・細胞学的手法による減数分裂過程の解析を行った。また、ChIA-PET(Chromatin Interaction Analysis by Paired-End Tag Sequencing)法によるパキテン期のクロマチンとタンパク質の相互作用の解析を試みた。

4. 研究成果

転座マウスの妊孕性は、CBA系統と交配したF1のT6/CBAのオスが産仔数の著しい減少(ヒトの習慣流産に相当)B10系統と交配したF1のT6/B10のオスが不妊であった。メスではいずれも産仔数の減少傾向が見られた。ヒトでは同じ転座切断点を持つ保因者でも、男性では不妊になる場合と習慣流産になる場合がある。同じ切断点を持つ転座マウスのオスも、系統により不妊あるいは産仔数減少という違いが現れたことは、そのようなヒトの表現型が生じるメカニズムを理解する上で役立つと考えられた。

転座マウスの精巢重量および精細管直径は妊孕性と相関しておりT6/B10で最も小さかった。精巢切片を用いてアポトーシスマーカーの局在を解析したところ、精子形成過程のパキテン期と分裂中期で多くの細胞死が認められた。とりわけ、パキテン期の細胞死はT6/B10では中期、T6/CBAは後期に主に起きるといった違いがあった。パキテン期の染色体標本を免疫染色で解析したところ、転座マウスはどちらの系統も転座染色体が対合不全を示し、そのほとんどが性染色体からなるXY-bodyと共同在していた。さらに転座マウスでは転写活性を示すマーカーのRNAポリメラーゼIIがXY-body上で陽性である細胞の割合がT6/T6と比較して2倍以上多く見られ、妊孕性と逆相関を示した。すなわち、転座マウスではMSCI不全の頻度が高いことが判明し、逆に転座染色体上の遺伝子発現が抑制されているのではないことが示唆された。精子形成ではパキテン期の性染色体の非対合部が不活化を受けて遺伝子発現が抑制されることが正常な減数

分裂の進行において必須である。従って、転座マウスにおけるパキテン期の細胞死は、MSCI 不全が原因であることが示唆された。

MSCI 不全の範囲は T6/CBA では T6/B10 と比較して小さく、転写は XY-body の中でも転座染色体近傍で起こりやすいことも示された。このことから、元来転座染色体上で機能する転写に関わる分子が XY-body に持ち込まれることで MSCI 不全が発生する可能性が考えられた。その分子メカニズムを明らかにするため、

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

堤真紀子、加藤武馬、稲垣秀人、大江瑞恵、倉橋浩樹、均衡型相互転座保因者モデルマウスにおける減数分裂期の性染色体不活化異常の発生機構の解明、日本人類遺伝学会第 60 回大会、2015

Makiko Tsutsumi, Takema Kato, Hidehito Inagaki, Tamae Ohye, Hiroki Kurahashi, Spermatogenic failure by impaired meiotic sex chromosome inactivation in a mouse with reciprocal translocation, ICHG2016, 2016

堤真紀子、加藤武馬、稲垣秀人、倉橋浩樹、均衡型相互転座モデルマウスの精子形成における性染色体不活化異常の発生機構、ConBio2017、2017

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8 桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。