

令和 6 年 9 月 17 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09487

研究課題名（和文）3世代コホート調査を用いた生殖補助技術特有のゲノム遺伝子異常の探索的研究

研究課題名（英文）Exploratory Study on Genomic Abnormalities Associated with Assisted Reproductive Technologies in a Three-Generation Cohort

研究代表者

菅原 淳史（Sugawara, Atsushi）

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：00554403

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）：本研究は、父母アレル間の遺伝子変換の検出と、そのイベントと生殖補助技術との関連の探索を目的としている。自然発生する父母アレル間の遺伝子変換に関する既存の報告がないため、独自の解析パイプラインを開発する必要があった。今回、2304トリオにおける全ゲノムシーケンシングデータを用いて、父母アレル間の遺伝子変換の抽出フローを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

減数分裂や体細胞分裂の文脈で語られる遺伝子変換であるが、父母アレル間で自然に発生するというは報告ない。本研究では、独自に開発したパイプラインを用いて、自然発生する父母アレル間での遺伝子変換を初めて確認した。この発見により、今まで原因が不明であった、潜性遺伝病やインプリンティング異常症の一部が、この現象が関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：This study investigated interparental gene conversion and its correlation with assisted reproductive technologies (ART). Traditionally discussed in the context of meiosis and somatic cell division, natural interparental gene conversion lacked detailed documentation, prompting the development of a specialized analytical pipeline. Utilizing whole-genome sequencing data, we developed a method to identify interparental gene conversion by focusing on Mendelian errors. Our research contributes valuable insights into the mechanisms of interparental gene conversion and underscores the importance of continued genetic monitoring in ART.

研究分野：動物生殖学

キーワード：父母アレル間遺伝子変換 潜性遺伝病 インプリンティング異常症 顕微授精

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、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

DNA の二重鎖切断(double strand break; DSB)を起こした領域は修復が必要となる。体細胞において DSB を修復する機構としては、非相同末端連結(Non-Homologous End-Joining; NHEJ) や相同組み替え修復 (Homology-directed repair; HDR) が知られている。DSB の修復に際して、HDR が採用されるとテンプレート配列からの一部がコピーされることがあり、この現象は gene conversion と呼ばれている。Gene conversion を起こした部位はホモ接合体となりヘテロ接合性の消失 (Loss of Heterozygosity; LOH) を呈することがある。Gene conversion は一般的には、減数分裂や体細胞分裂の文脈で語られる現象である。しかし、体外受精の際に Crispr-Cas9 を用いて人為的に DSB を作成した研究によると、父母アレル間で gene conversion を起こしていると報告している。この報告は、受精前後に発生する DNA の二重鎖切断や、配偶子形成時に修復されずに残存した二重鎖切断が、父母のアレル間での gene conversion によって修復されることを示唆している。この現象が発生すると、子アレルにおいてヘテロ接合性が失われるため、潜在性遺伝病やインプリンティング異常症の原因となる可能性がある。さらに、顕微授精によって接合子の DNA に DSB が生じることを示唆する報告や、体外受精によって子供にインプリンティング異常症の発生率が高まるとの報告もあり、これが事実であれば、顕微授精で出生した子供において、父母のアレル間での gene conversion が頻繁に起こっている可能性が考えられる。

### 2. 研究の目的

- 1) 父母アレル間の gene conversion について検討した既報がないため、その抽出フローを作成する。
- 2) 結果として得られた gene conversion の頻度と染色体上の分布の特徴を評価する。
- 3) 顕微授精によって gene conversion の頻度が増加するかどうかを評価する。

### 3. 研究の方法

#### 対象

ToMMo (東北メディカル・メガバンク機構) の 3 世代コホート調査に登録されたサンプルで、親子関係が確認された 2304 トリオを対象に、常染色体の genome sequencing data を用いて解析を行った。

#### 解析方法

現在までに父母アレル間の gene conversion を特定する試みはないため、この研究では新しい手法を構築した。まず、パイアレリックなサイトに限定してトリオを解析し、メンデルアンエラーを用いて gene conversion を特定した。また、構造バリエーションやクローン造血による clonal mosaicism といった現象が結果を歪める可能性があるため、これらを別途抽出し、解析の対象から除外することで偽陽性を減少させた。さらに、ショートリードよりもロングリードシーケンシングが SV の特定に有用であることから、ロングリードデータで SV コールを終了した 109 トリオに関しては、そのデータも活用して正確な gene conversion の特定に注力した。

### 4. 研究成果

#### 1) 片親性ダイソミー (Uniparental disomy : UPD) の抽出

本研究で用いた解析方法を通じて、父母アレル間の gene conversion と同じジェノタイプを示す UPD を同定することができた。一般集団でのゲノムシーケンシングデータに基づく UPD の抽出としては初の試みである。また、症状を持つ集団において SNP アレイを用いて行われた先行研究と比較しても、UPD の発生率に大きな差はなかったことが示された。

#### 2) gene conversion の頻度、染色体上の分布の特徴

各トリオにおいて、父母アレル間 gene conversion が認められた。アノテーションした結果、影響を受けたサイトの約 1% にコーディング領域が含まれていた。これらのデータから、父母アレ

ル間の gene conversion は比較的一般的な現象であり、子供の表現型に影響を与える可能性があることが示唆された。

さらに、父母アレル間の gene conversion には hotspot が存在することが判明した。母親由来と父親由来の両方で共通して認められる gene conversion が存在する一方で、片方の親由来アレルに特異的に gene conversion が発生しやすい領域も明らかになった。Gene conversion が配偶子ゲノムの DSB に起因していることを考慮すると、この特異性は男性と女性の配偶子 DNA で DSB が生じやすい部位を反映しているかもしれない。

### 3) 顕微授精(ICSI)と gene conversion との関係

妊娠方法が明らかな 1110 トリオにおいて、顕微授精(ICSI)群、一般的な体外受精(IVF)群、非生殖補助医療(non-ART)群に分けて、父母アレル間の gene conversion の発生率を評価した。論文投稿準備中であるため、現時点での詳細な成果については記載を控える。

### 結論

今回、父母アレル間の gene conversion を特定するためのフローを初めて作成し、一般集団でのその頻度を評価した。この現象が存在することが確認されたことにより、今まで原因が不明であった潜在性遺伝病やインプリンティング異常症の一部に対する新しい理解が得られる可能性がある。また、本研究は常染色体シーケンシングデータを用いて片親性ダイソミーを同定した最初の報告である。父母アレル間の gene conversion の hotspot の同定は DSB の発生しやすさと関連があると考えられ、特に、由来特異的なホットスポットは配偶子 DNA における DSB 発生の特異性を示唆している。さらに、顕微授精を含む高度生殖医療が gene conversion の発生に影響を与えないことも明らかになった。しかし、この結果だけで生殖補助医療が出生児のゲノムに悪影響がないことが示された訳ではなく、de novo 点突然変異や新規構造バリエーションの発生、モザイクの発生など DSB に関連したゲノム変異と生殖補助医療との関連は、まだまだ明らかになっていない部分が多く、今後のさらなる研究が望まれる領域である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	菅原 準一  (Sugawara Junichi)  (60280880)	東北大学・医学系研究科・教授   (11301)	
研究分担者	立花 眞仁  (Tachibana Masahito)  (30431571)	東北大学・医学系研究科・准教授   (11301)	
研究分担者	渡邊 善  (Watanabe Zen)  (40722567)	東北大学・大学病院・講師   (11301)	
研究分担者	志賀 尚美  (Shiga Naomi)  (20595558)	東北大学・大学病院・講師   (11301)	
研究分担者	久野 貴司  (Kuno Takashi)  (40897881)	東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師   (11301)	

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
---------	---------