

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 27 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591524

研究課題名(和文) 受精・体細胞分裂で生じる染色体転座機序の研究

研究課題名(英文) mechanism of post zygotic chromosomal translocation

研究代表者

坂爪 悟 (sakazume, satoru)

獨協医科大学・医学部・講師

研究者番号：70306174

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：まれな染色体異常とそれによる説明不能な表現形を持つ患者を元に受精後転座の仮説を立てて証明に望んだ。しかし、検証するに至らなかった。理由として、体細胞融合による染色体の脱落を狙って研究を始めたが、融合細胞が得られなかった。さらに転座切断点の領域が非常に反復配列に富み切断点を特定できなかったこと、またそれに伴い多型の乏しい領域で有り多型解析に難渋を極めた。

研究成果の概要(英文)：We could not clarify the post zygotic trans location using rare chromosomal trans location. Unfortunately somatic cell hybrids were not obtained with conventional protocol. The break points were full of repeated elements and we could not find meaningful markers to know parental origins.

研究分野：小児科学

キーワード：染色体 転座 多型

1. 研究開始当初の背景

染色体異常には、大別して数的異常と転座(2種の異なる染色体の融合)がある。これらはいずれも、精子や卵子の形成過程(受精前)に生ずるものと考えられてきた。このうち、数的異常には、ダウン症候群(21トリソミー)、ターナー症候群(X0)やクラインフェルター症(XXY)があり、主に卵子形成過程での染色体の不分離が原因と考えられている。一方転座には、親から子へ伝えられる場合と、主に精子形成過程での新生突然変異として生ずる場合がある。この場合、染色体量に過不足のない転座保因者は無症状だが、染色体量に過不足が生じる不均衡転座は流産や種々の奇形発生の原因となる。このような背景から、染色体異常は、従来、受精前に発生するものと考えられてきた。

今回の研究テーマの発端は、我々の分析により転座が受精後に生じたと示唆される症例を見いだしたことだ。つまり、患者の派生(異常)染色体は、父由来の部分と母由来の部分が融合したものと考える。本研究の目的は、以上をふまえ、この仮説「受精後の染色体異常の発生」を種々の方法で確実に証明することである。

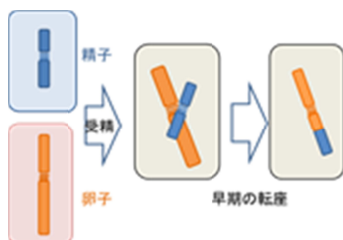
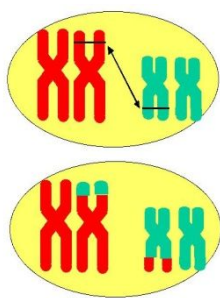
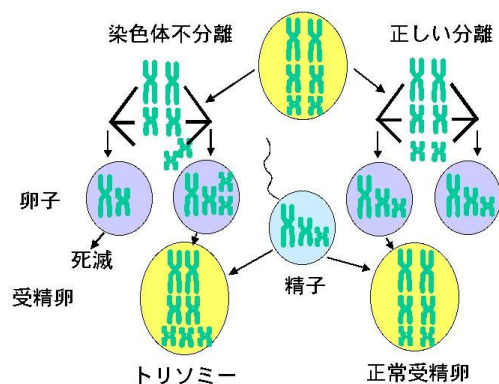
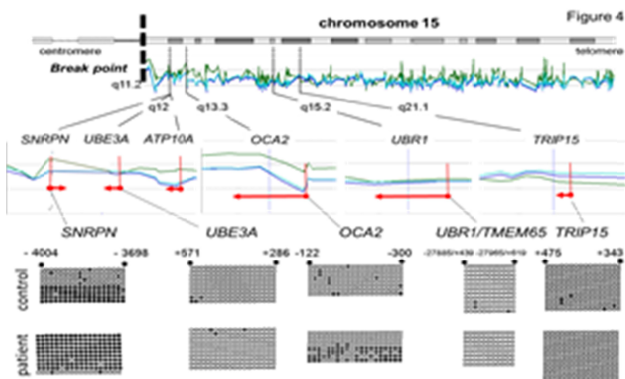
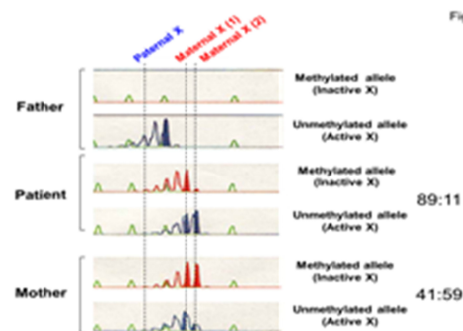


Figure 3



2. 研究の目的

研究目的は「受精後の染色体異常の発生」を証明することである。染色体異常には、数的異常と転座(構造異常)がある。いずれも、卵子・精子の形成過程(受精前)に生ずると考えられてきた。数的異常には、ダウン症候群(21トリソミー)、ターナー症候群(X0)等があり、卵子形成過程で染色体の不分離が原因とである。転座には、精子形成過程での新生突然変異として生ずる、染色体量に過不足が生じる場合は流産や奇形発生の原因となる。背景から、染色体異常は、従来、受精前に発生するものと考えられてきた。今回の研究は、我々の分析により転座が受精後に生じたと示唆される症例を見いだした。患者の派生(異常)染色体は、受精後に父母由来の染色体が融合したことを証明する。

3. 研究の方法

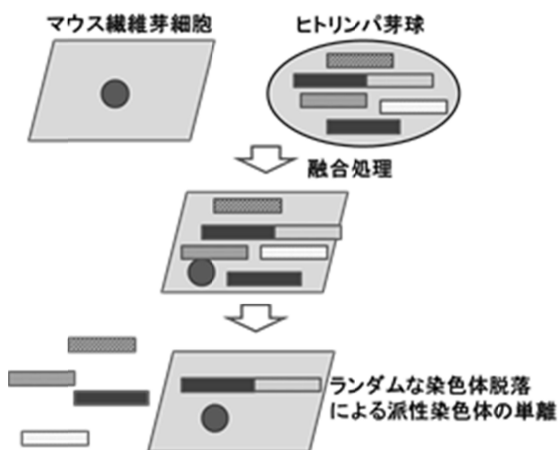
(1) 患者リンパ芽球(LCL)と齧歯類の線維芽

細胞で融合細胞を作成する。融合細胞作成過程でランダムに染色体の脱落が生じる。

(2) 細胞融合および薬剤耐性遺伝子による選択で、細胞クローンを多数得る。

(3) スクリーニング法は STR 多型を用い、父由来 15 番染色体多型と母由来 X 染色体多型のアリルを有するクローンを選択する。

(3) 派生染色体の同定は G 染色と FISH 法で行う。



4. 研究成果

患者由来 B リンパ芽球とマウス繊維芽細胞を用いた融合細胞の作成を10回程度、標準的な方法で試みたが作成ができなかった。したがってこの方法では派生染色体の単離ができなかった。次いで、FISH による切断点の決定を試みたが、X 染色体、15 番染色体の切断点の近傍ともに反復配列が多く、切断点の決定には至らず、近傍100kb程度の特定にとどまった。

次に、15 番染色体のモノソミー領域と思われる部位の多型を用いた由来解析に挑戦した。DB を詳細に調べたが該当領域には STR マーカーは1つも存在しないと判明した。やむなく SNP S 解析を行いおおよそ150のSNPSを調べたが、有意な情報が得られず、派生染色体の親由来の決定に至っていない。

推測になるが、X、15 番染色体ともに反復配列の多い領域での転座であったので、反復配列自体が転座の誘発因子であったと思う。また反復配列が多いことから、PCR 法、や FISH 法の難渋の原因となり派生染色体の親由来の同定に至らなかった。融合細胞作成の困難であったことや、多型マーカーをデータベースで探すこと、また、シーケンスに思いの外時間をとられ期間内に最終的な物理的な染色体の単離、マイクロダイセクションによる派生染色体単離に至ることができなかった。

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4件)

1: Mishra D, Kato T, Inagaki H, Kosho T, Wakui K, Kido Y, Sakazume S,

Taniguchi-Ikeda M, Morisada N, Iijima K, Fukushima Y, Emanuel BS, Kurahashi H.

Breakpoint analysis of the recurrent constitutional t(8;22)(q24.13;q11.21)

translocation. Mol Cytogenet. 2014 Aug 13;7:55. doi: 10.1186/s13039-014-0055-x.

eCollection 2014. PubMed PMID: 25478009; PubMed Central PMCID: PMC4255720.

2: Mimaki M, Shiihara T, Watanabe M, Hirakata K, Sakazume S, Ishiguro A,

Shimajima K, Yamamoto T, Oka A, Mizuguchi M. Holoprosencephaly with cerebellar

vermis hypoplasia in 13q deletion syndrome: Critical region for cerebellar

dysgenesis within 13q32.2q34. Brain Dev. 2014 Nov 8. pii: S0387-7604(14)00257-5.

doi: 10.1016/j.braindev.2014.10.009. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25454392.

3: Yoshino A, Honda M, Sasaki N, Hataya H, Ishikura K, Sakazume S, Tanaka Y,

Nagai T. Selection of infants who potentially have congenital anomalies of the

kidney and urinary tract from a large cohort for a more thorough examination.

Clin Exp Nephrol. 2014 Sep 26. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25255780.

4: Kosho T, Okamoto N; Imai Y, Ohashi H, van Eerde AM, Chrzanowska K, Clayton-Smith J,

Kingston H, Mari F, Aggarwal S, Mowat D, Niikawa N, Hiraki Y, Matsumoto N, Fukushima Y, Josifova D, Dean J, Smigiel R, Sakazume S, Silengo M,

Tinschert S, Kawame H, Yano S, Yamagata T, van Bon BW, Vulto-van Silfhout AT, Ben-Omran T,

Bigoni S, Alanay Y, Miyake N, Tsurusaki Y,

Matsumoto N, Santen GW, Wieczorek D, Wolnik B,

Hennekam RC.

Genotype-phenotype correlation of Coffin-Siris syndrome caused by mutations in SMARCB1, SMARCA4, SMARCE1, and ARID1A. Am J Med Genet C Semin Med Genet. 2014 Sep;166C(3):262-75. doi: 10.1002/ajmg.c.31407. Epub 2014 Aug 28. PubMed PMID: 25168959.

〔学会発表〕(計1件)

坂爪 悟 受精後転座が推測される染色体異常の1例, 日本人類遺伝学会第59回大会, 2014年11月20日, 東京

〔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：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂爪 悟 (SAKAZUME, satoru)
獨協医科大学・医学部・小児科・講師
研究者番号：70306174

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：