

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

分担課題：姉妹染色体の異数性に関する研究

研究分担者 柳原 格 大阪府立母子保健総合医療センター研究所

研究要旨

流産、不育つながらる染色体の数の異常（異数性）のメカニズムについて、そのモデル動物の作出を行った。姉妹染色体合着異常、その後の発生異常を確認した。

A. 研究目的

妊娠後、初期発生を含め7割が妊娠継続できない。その主な原因として染色体の正常な分配が行われない染色体異数性の問題が挙げられている。この異数性の原因の一つに姉妹染色体合着に関わるコヒーシ複合体の不安定性が考えられている。コヒーシ複合体の一つである SMC3 のアセチル化を起す ESC02 遺伝子の変異体モデル動物を作出し、染色体の数の異常に正面から向き合うための基礎的な解析を行う。

B. 研究方法

変異原（ENU）を用いた大規模な遺伝子変異体作出・解析には、わが国固有のメダカ（*O. latipes*）を使用した。哺乳類の解析に比べ、卵が大量に採取できること、卵が透明なため胎生致死個体も容易に観察できること、場所、費用の負担が少ないこと、などがあげられる。また、胎内発生の可視化が行えるため、胎内死亡する変異体の解析にも適している。

また、ESC02 遺伝子の転写調節機構に関しては、これまで報告がない。ヒト ESC02 遺伝子の 5' 領域の領域からコアプロモーター領域を同定し、ルシフェラーゼアッセイ、EMSA、ChIP、などの手法を用いて基本転写因子を同定した。（倫理面への配慮）

施設内動物委員会で承認を受け、規定を遵守し研究を行っている。

C. 研究結果

これまで姉妹染色体の合着異常を起こす世界でも非常にまれな疾患原因遺伝子の同定を行った（Vega, et al. Nature Genet, 2005）。特徴は、染色体が分裂前に中心体で結合してい

るいわゆる X 字状にならず、平行（線路様）になる（PCS）。5771 個のメダカ精子遺伝子プールから、合着にかかわると考えられる遺伝子のスクリーニングを行い、6 つのミスセンス変異を見出した。これらの交配の結果、この変異をホモにもつ卵を得ることに成功した。卵の解析の結果、約 4 分の 1 の確立で卵の発生異常を確認した。さらに、ホモ変異体に対して行った染色体解析では PCS を起すことが次第に明らかになりつつある。また、発生段階を追って解析した結果、発生の停止は特に細胞増殖の盛んな臓器を中心にアポトーシスを起こしていることが確認された。

D. 考察

姉妹染色体合着に関わるコヒーシ複合体の中の SMC3 のアセチル化にかかわる ESC02 の変異体を作成した。この変異体は、正常発生過程における細胞増殖を行うことができず、アポトーシスによって多くの細胞死が認められ、受精後 2 日から発生異常が観察された。受精後 1 - 2 日後の染色体分析で、一部細胞に PCS や染色体数の異常が認められた。詳細は、さらに解析を行っている。このことは、異数性発症のメカニズム、女性のエイジングによる染色体の数異常（Down 症など）の増加、そして、不育症の一つのメカニズムと捕らえることができる。

E. 結論

染色体異数性のおこるメカニズムにコヒーシ複合体安定性に関わる ESC02 が関与していることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Placental Features of Chorioamnionitis Colonized with Ureaplasma Species in Preterm Delivery. *Pediatr Res.* 2010. 67(2):166-172
- 2) Birth length is a predictor of adiponectin levels in Japanese young children. *J Pediatr Endocrinol Metab. (JPEM)*, 2010, In press, 2010.
- 3) Transcriptional Regulation of the Human Establishment of Cohesion 1 Homolog 2 Gene. *Biochem Biophys Res Com.* 2010, In Press
- 4) Intrinsically Less-ordered effectors from Pathogenic Gram-negative Bacteria: A case for EspB from Enterohaemorrhagic and Enteropathogenic *Escherichia coli*. *FEBS J*, In Press, 2010

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fumihiko Namba, Taeko Hasegawa, <u>Itaru Yanagihara*</u> et al.	Placental Features of Chorioamnionitis Colonized with <i>Ureaplasma</i> Species in Preterm Delivery.	Pediatr Res	67(2)	166-172	2010
Masahiro Nishihara, Mina Sonoda, <u>Itaru Yanagihara*</u> et al.	Birth length is a predictor of adiponectin levels in Japanese young children.	Journal Pediatr Endocrinol Metab			2010 In Press
Masahiro Nishihara, Minoru Yamada, Masatoshi Nozaki, Kumiko Nakahira, <u>Itaru Yanagihara*</u>	Transcriptional Regulation of the Human Establishment of Cohesion 1 Homolog 2 Gene	Biochem Biophys Res Com.			2010 In Press
Daizo Hamada, Mitsuhide Hamaguchi, Kayo Suzuki-Nagata, <u>Itaru Yanagihara</u>	Intrinsically Less-ordered effectors from Pathogenic Gram-negative Bacteria: A case for EspB from Enterohaemorrhagic and Enteropathogenic <i>Escherichia coli</i> .	FEBS J			2010 In Press