The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	A Pair of Maternal Chromosomes Derived from Meiotic Nondisjunction in Trisomy 21 Affects Nuclear Architecture and Transcriptional Regulation
Author(s)	大森, 早也佳
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67118
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）	大森 早也佳		
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主　査	大阪大学教授	大園 恵一
	副　査	大阪大学教授	高島 康二
	副　査	大阪大学教授	藤堂 剛

論文審査の結果の要旨

申請者はダウン症候群の3本の21番染色体の由来(父、母)に着目し、核内配置及び遺伝子発現解析に取り組んだ。ゲノム編集技術を用いて父由来の21番染色体上のDYRk1A遺伝子を欠失導入し、その有無で染色体の由来を区別可能にした。この細胞を用いて核内配置を解析し、母親由来の過剰な21番染色体をもつダウン症候群では、母由来の2本の21番染色体が近接し父由来の1本が離れた特徴的な配置を示すことを明らかにした。また父由来の21番染色体は母由来よりも核膜に近い配置をとることも示した。次に3本の21番染色体を比較するために、申請者は染色体除去技術を用いてダウン症候群から正常核型となった細胞を3種類樹立した。これらの細胞の核内配置及び遺伝子発現を比較した結果、父由来の21番染色体を除去した細胞では母由来を除去した細胞に比べて核膜から離れた配置をとり、21番染色体上の一部の遺伝子は有意に高い発現を示すことを見つけた。一方、健常児では染色体の由来に核内配置は影響しないことから、これらの現象はダウン症候群特有のものであると考えられる。

以上の結果はダウン症候群における染色体の由来と核内配置及び遺伝子発現の関係を示した初めての報告であり、申請者は博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　　名 Name	大森　早也佳
論文題名 Title	A Pair of Maternal Chromosomes Derived from Meiotic Nondisjunction in Trisomy 21 Affects Nuclear Architecture and Transcriptional Regulation (減数分裂の不分離によって生じた21トリソミーの母由来の21番染色体のペアは核内配置と転写制御に影響を与える)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

体細胞分裂間期の核において、各染色体は染色体テリトリーと呼ばれる一つの塊として特定の領域を占有し、遺伝子密度や染色体のサイズに応じた核内配置をとっている。染色体テリトリーは遺伝子発現に関与することが明らかになっており、一般的に染色体の外側に配置される遺伝子は遺伝子発現が促進され、内側にある遺伝子は抑制される傾向にある。核膜との相関も明らかになっており、核ラミナに接する遺伝子領域は遺伝子の発現が抑えられる。核内配置は細胞の分化に伴って変化し、遺伝子の発現制御に大きく関わっている。

ダウン症候群（21トリソミー)は過剰な21番染色体により引き起こされる最も頻度の高い染色体異常である。過剰な21番染色体が核内配置に与える影響に関しては、21トリソミーのリンパ球を解析した報告から、55%の核において3本のうち2本の21番染色体が近接し、残りの1本は離れた特徴的な核内配置をとることが知られている。しかし、その核内配置が遺伝子発現にどのような影響があるか、また染色体の由来(父親または母親由来)に関係があるかに関してはいまだ明らかになっていない。

そこで我々は、ダウン症新生児から樹立したiPS細胞とゲノム編集技術を組み合わせて3本の21番染色体の由来を特定し、核内配置との関係を調べた。さらに21トリソミーから21番染色体を1本取り除き正常な核型となった細胞を樹立し、3本の21番染色体を比較することで、21トリソミーにおける染色体の由来と核内配置および遺伝子発現との関係を明らかにすることを目指した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

21トリソミーにおける21番染色体の由来と核内配置および遺伝子発現との関係を明らかにするために、以下の2種類の細胞を樹立した。なお本研究ではダウン症候群の中で最も頻度が高い、卵子形成時の減数第一分裂不分離由来の検体を使用している。

(1) Partial trisomy 21 iPS細胞の樹立 -4Mbの欠失導入-

TALENを用いて父親由来の21番染色体上にloxP配列を2箇所同方向に導入し、Cre-loxPシステムを介した4Mbの領域欠失を誘導した。これにより4Mbの領域内にあるDYRK1Aの有無で父親由来(DYRK1A欠失)と母親由来(DYRK1A正常)が区別可能となった。樹立した細胞を用いて21番染色体の核内配置を解析した結果、特徴的な核内配置において、母親由来の2本が近接し、父親由来の1本がそれらと離れて配置する傾向を示すことがわかった。また、父親由来の21番染色体は母由来と比べて核膜に近い配置を示すことも明らかになった。

(2) corrected disomy 21 iPS細胞の樹立 –染色体除去技術の確立-

次に3本の21番染色体の各々の機能を比較するために、21トリソミー由来のiPS細胞から染色体を1本除去し正常核型となった細胞を3種類樹立した。染色体除去は、向かい合ったloxP配列を含むカセットを21番染色体上に導入し、Cre-loxPシステムを介すことで得られた。樹立した細胞の核内配置と遺伝子発現を比較したところ、21トリソミーと一致して父親由来の染色体を除去した場合のみ核膜から離れた配置をとる傾向を示した。また一部の遺伝子において父親由来の染色体を除去した場合のみ、有意に高い発現を示すことがわかった。一方、健常児のiPS細胞において2本の21番染色体の核膜からの距離に有意な差はないことから、21トリソミー特異的な現象であると考えられる。さらに遺伝子発現に違いをみとめた遺伝子の一部の発現パターンをRNA FIASHで解析したところ、揺らいだ発現パターンを示すことが明らかとなった。

〔総　括(Conclusion)〕

ダウン症候群において、不分離で生じた母親由来の2本と父親由来の一本はそれぞれ特徴的な核内配置を示し、その影響と考えられる遺伝子発現の変化をみとめた。一方、健常児においては染色体の由来による差を認めないことから、不分離で生じた21トリソミー特有の現象であると考えられる。