

奨励賞受賞者論文

ヒト卵母細胞における染色体分配異常の 加齢依存性増加機構

堤 真 紀 子

(藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・分子遺伝学研究部門)

1. はじめに

2013年に日本に無侵襲的出生前診断が導入されて以来、母親の加齢に伴いダウン症候群などの染色体の数的異常の発生頻度が増加する現象について多くの人々が関心を寄せるようになった。数的異常は異数性とも呼ばれ、胎児染色体の異数性は流産や先天異常症候群の原因となる。

2. 母親の加齢と染色体異数性の増加

母親の年齢が35歳を超えるとトリソミーの発生率が指数関数的に増加する。全妊娠中のトリソミーの発生率は20歳代で3~5%であるのに対し、40歳代では30%を超える¹。染色体異数性は卵の減数分裂時の染色体の分配異常によって生じる。加齢依存的に発生する異数性の多くは第一減数分裂の分配エラーに起因

する^{1,2}。しかし加齢により増加する機序はよくわかっていない。

3. 卵の減数分裂の進行とコヒーシン

染色体の正確な分配のために重要な役割を担う分子の一員がコヒーシンである。コヒーシンは4つのサブユニットSMC3, SMC1B, REC8などからなる複合体で、SMC3が減数分裂細胞と体細胞共通のサブユニット、SMC1BとREC8が減数分裂特異的サブユニットでそれぞれの体細胞型がSMC1AとRAD21である。これらがリング状になって複製後の姉妹染色分体を接着している(図1A)。減数分裂時には父由来と母由来の相同染色体はペアを形成し、相同組換えが起こる。これにより遺伝的多様性をもたらすと同時に、相同染色体がキアズマで結びついた二価染色体が形成さ

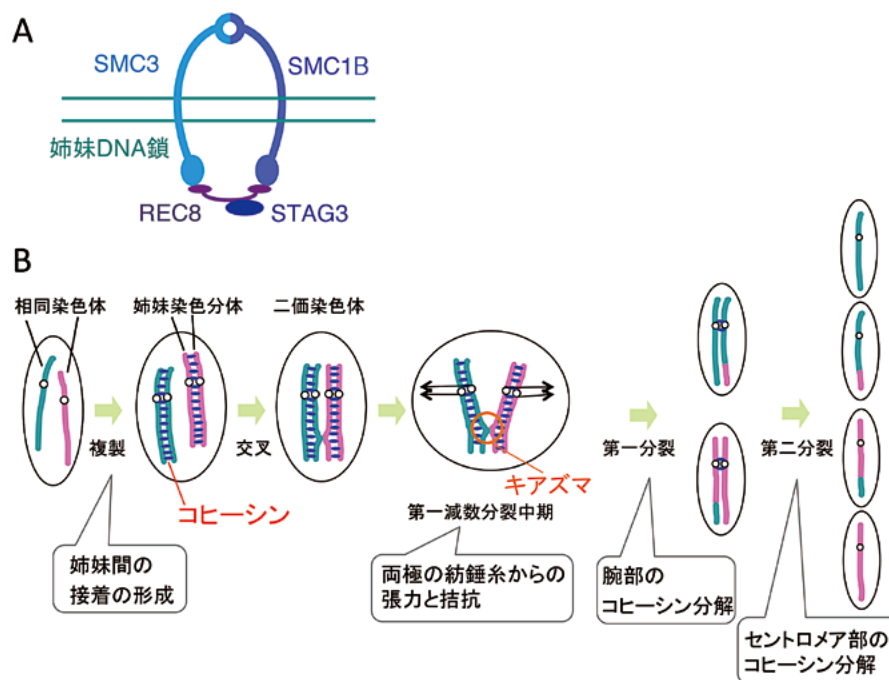


図1 A) 減数分裂コヒーシン複合体の構造。B) 減数分裂の進行とコヒーシン。

れる。第一減数分裂中期にはキアズマ部位が両極からの紡錘糸から受ける張力を支える。後期に腕部のコヒーシスが分解され、相同染色体同士が別々の娘細胞に分配される。第二減数分裂ではセントロメア部のコヒーシスが分解され、姉妹染色分体が分離する（図1 B）。このように、コヒーシスによる染色体の接着とその順次的な解消は染色体の正確な分配を促している。SMC1Bのノックアウトマウスは加齢依存的に卵の染色体異数性が増加することから⁵、コヒーシスは母親の加齢に伴う染色体の分配異常の発生に関わる分子として注目されてきた。

哺乳類の卵形成は胎生期に始まり、DNA複製後、染色体の相同組換えを終えたところで減数分裂の進行は一旦停止する。出生後、思春期を迎えそれが排卵される時に減数分裂が再開し、2回の分裂を経て卵になる。近年この停止期間には新たに減数分裂特異的コヒーシスが合成されないことが遺伝子改変マウスの研究で明らかになった^{6,7}。また、ヒトの卵の遺伝子発現解析では体細胞型コヒーシスのmRNAは高発現しているが減数分裂特異的コヒーシスの発現はごくわずかであることが示された^{8,9}。従って10～50年にも及ぶ長い停止期間に新たに減数分裂特異的コヒーシスが補充されないため、コヒーシスが徐々に減少し、染色体間の接着が劣化することが、卵の染色体異数性の増加の原因であるという仮説が立てられた（図2）。

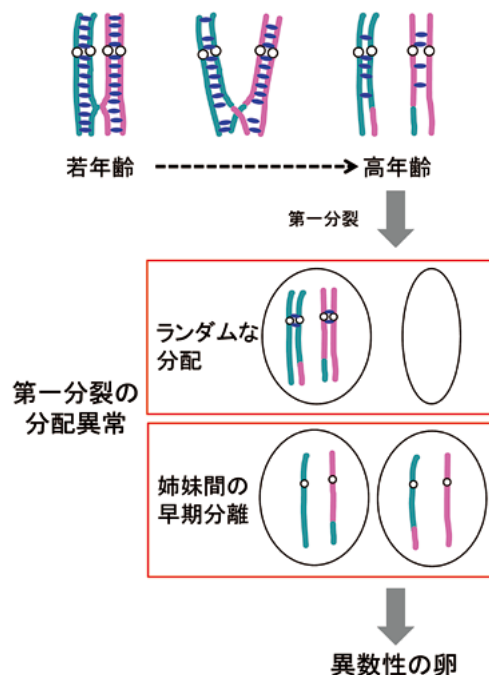


図2 加齢依存性染色体分配異常の発生モデル。加齢によりコヒーシスが減少し、第一分裂に際して二価染色体が両極からの紡錘糸の張力を支えることができず、それぞれの相同染色体がランダムに分配されたり、姉妹間で張力を受けて姉妹が分離する。この場合は第二分裂でランダムな分配となり染色体異数性の卵が生じる。

4. 卵母細胞のコヒーシスの定量

上述の仮説を検証するため、私たちはヒトおよび野生型マウス（C57BL/6NCr）の卵母細胞のコヒーシスの定量を行い、各年齢間で比較した。卵巣組織として19歳から49歳の卵巣腫瘍摘出手術検体の正常部をインフォームドコンセントの上で入手した。卵巣組織切片を作製し、抗コヒーシス抗体を用いて蛍光免疫染色して蛍光シグナル強度を測定した。

減数分裂特異的コヒーシス REC8, SMC1B は卵母

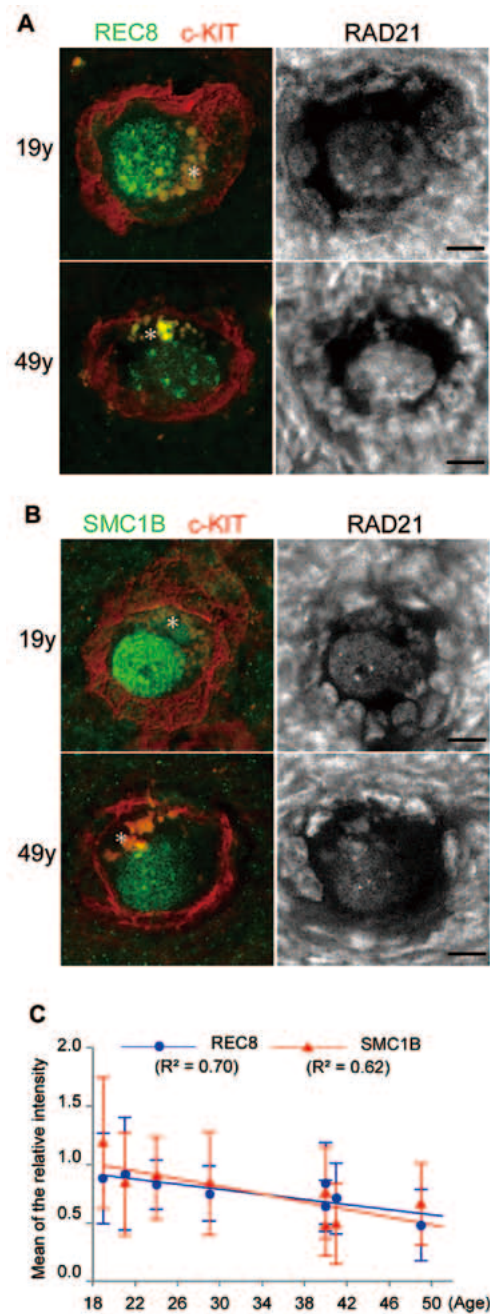


図3 ヒト卵母細胞コヒーシスの免疫染色。A, B) 減数分裂特異的コヒーシス (REC8, SMC1B) は卵母細胞の核に局在する。体細胞型コヒーシス (RAD21) は卵母細胞と周囲の体細胞どちらにも存在する。c-Kit は卵母細胞マーカー、*は自家蛍光。Bar, 10µm。C) 卵母細胞1個あたりのコヒーシスシグナル強度の各個人の平均値の回帰分析。括弧内は決定定数。(文献10を改変)

細胞の核でひも状に検出されたが、19歳と比較して49歳ではシグナルが弱く（図3A, B）、19歳から49歳まで8名を定量した結果、REC8もSMC1Bも加齢依存的に有意に減少していた（図3C）。マウスでも加齢により異数性の卵が増加するが^{11,12}、同様にコヒーシンを定量したところ、2か月齢と比較して10か月齢で減数分裂特異的コヒーシンは減少していた。これらの結果から、加齢によりコヒーシスが減少すると姉妹染色体間での接着が劣化して、相同染色体間の連結が失われるために娘細胞への染色体の分配がランダムになり、結果として分配異常が増加することが示唆される（図2）。

次に卵母細胞に存在する体細胞型コヒーシンSMC3, SMC1A, RAD21を定量した。減数分裂特異的コヒーシンとは異なり、これらは加齢に伴う量の変化が認められなかった（図4A-C）。興味深いことにSMC1Aはヒトでは周囲の体細胞と同レベルのシグナル強度で検出されたが、マウスの卵母細胞ではシグナルが非常に弱くほとんど検出されなかった（図4B, D）。SMC1Aのこの発現の違いが寿命の長いヒトが獲得した長期間コヒーシンを維持するメカニズムに関

わっているかもしれない。おそらくヒトの卵母細胞では減数分裂型と体細胞型両方のコヒーシスが協働しており、SMC1A-RAD21コヒーシスは減数分裂停止期間中もターンオーバーを続けて、染色体の接着の維持にある程度寄与している可能性がある。しかし複製を伴わないために姉妹を束ねる効率が悪く、最終的には染色体間の接着が劣化すると考えられる。^{13,14}

5. 染色体異数性の発生を抑制できるか？

加齢によりコヒーシスが減少することが明らかになったが、それを防ぐ方法はまだない。既存のコヒーシスがどのようにして壊れ失われるのかは不明である。コヒーシン分解物の同定による減少メカニズムの推定や、染色体間の接着を補う分子の開発により、将来的には高齢妊娠による染色体異数性の発生リスクを軽減できると期待される。また、コヒーシン遺伝子をターゲットにした個人ゲノムの解析をすれば、異数性を起こしやすい人と起こしにくい人がわかるかもしれない。そのリスク算定で遺伝カウンセリングに役立つ情報が得られる可能性がある。

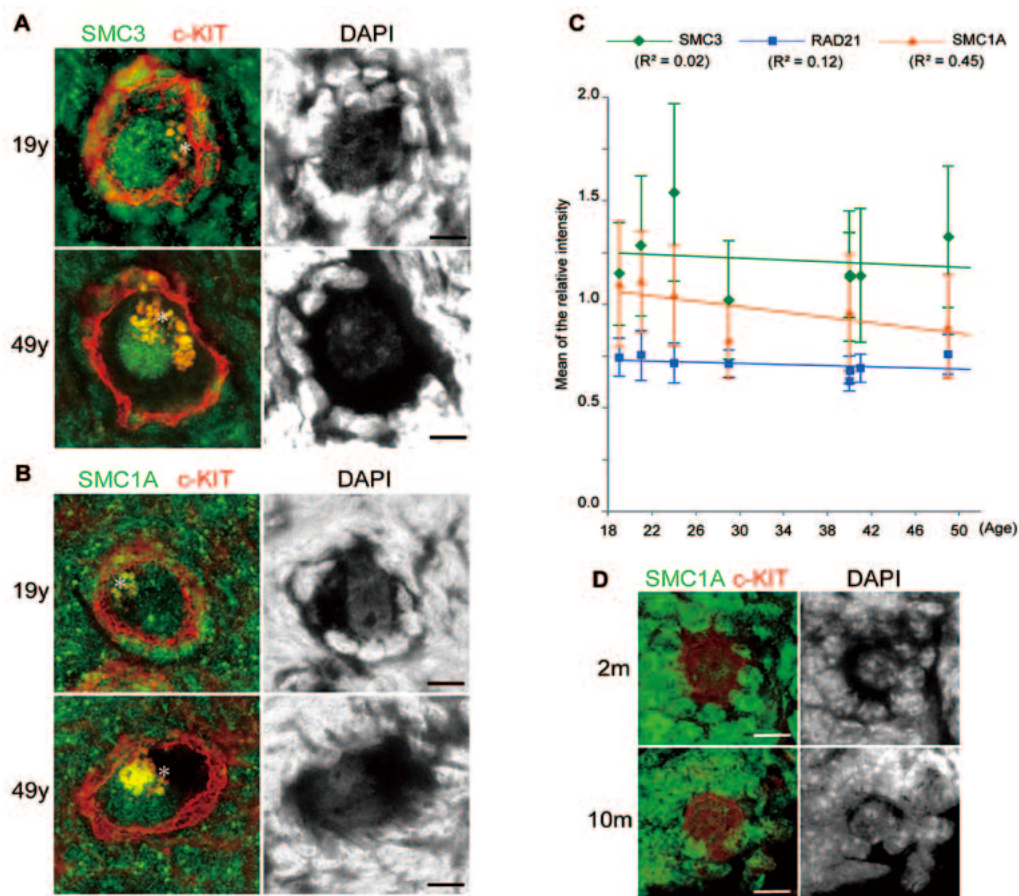


図4 卵母細胞の体細胞型コヒーシンの免疫染色。A, B) ヒト卵母細胞の体細胞型コヒーシスは周囲の体細胞と比較して卵母細胞も同程度のシグナル強度である。C) 卵母細胞1個あたりのコヒーシンシグナル強度の各個人の平均値の回帰分析。括弧内は決定定数。D) マウスのSMC1Aの免疫染色。卵母細胞ではほとんど検出されない。Bar, 10 μ m。（文献10を改変）

謝 辞

本研究にあたりご協力いただいた倉橋浩樹先生を始めとする分子遺伝学研究部門の皆様、ならびに産婦人科学教室の西澤春紀先生に深く感謝いたします。本研究はJSPS科研費22790334, 25860255, 21028020, 23013019の助成を受けたものです。

文 献

- 1) Hassold T and Hunt P : To err (meiotically) is human : the genesis of human aneuploidy. *Nat. Rev. Genet.* 2001 ; 2 : 280 – 291.
- 2) Hassold T, Hall H, and Hunt P : The origin of human aneuploidy : where we have been, where we are going. *Hum. Mol. Genet.* 2007 ; 16 : R203 – 208.
- 3) Revenkova E, Eijpe M, Heyting C, Hodges CA, Hunt PA, Liebe B, Scherthan H, and Jessberger R : Cohesin SMC1 beta is required for meiotic chromosome dynamics, sister chromatid cohesion and DNA recombination. *Nat. Cell Biol.* 2004 ; 6 : 555 – 562.
- 4) Wood AJ, Severson AF, and Meyer BJ : Condensin and cohesin complexity : the expanding repertoire of functions. *Nat. Rev. Genet.* 2010 ; 11 : 391 – 404.
- 5) Hodges CA, Revenkova E, Jessberger R, Hassold TJ, and Hunt PA : SMC1beta-deficient female mice provide evidence that cohesins are a missing link in age-related nondisjunction. *Nat. Genet.* 2005 ; 37 : 1351 – 1355.
- 6) Revenkova E, Herrmann K, Adelfalk C, and Jessberger R : Oocyte cohesin expression restricted to predictate stages provides full fertility and prevents aneuploidy. *Curr. Biol.* 2010 ; 20 : 1529 – 1533.
- 7) Tachibana-Konwalski K, Godwin J, van der Weyden L, Champion L, Kudo NR, Adams DJ, and Nasmyth K : Rec8-containing cohesin maintains bivalents without turnover during the growing phase of mouse oocytes. *Genes Dev.* 2010 ; 24 : 2505 – 2516.
- 8) Grøndahl ML, Yding Andersen C, Bogstad J, Nielsen FC, Meinertz H, and Borup R : Gene expression profiles of single human mature oocytes in relation to age. *Hum. Reprod.* 2010 ; 25 : 957 – 968.
- 9) Markholt S, Grøndahl ML, Ernst EH, Andersen CY, Ernst E, and Lykke-Hartmann K : Global gene analysis of oocytes from early stages in human folliculogenesis shows high expression of novel genes in reproduction. *Mol. Hum. Reprod.* 2012 ; 18 : 96 – 110.
- 10) Tsutsumi M, Fujiwara R, Nishizawa H, Ito M, Kogo H, Inagaki H, Ohye T, Kato T, Fujii T, and Kurahashi H : Age-related decrease of meiotic cohesins in human oocytes. *PLoS One.* 2014 ; 9 : e96710.
- 11) Koehler KE, Schrupp SE, Cherry JP, Hassold TJ, and Hunt PA : Near-human aneuploidy levels in female mice with homeologous chromosomes. *Curr. Biol.* 2006 ; 16 : R579 – 580.
- 12) Selesniemi K, Lee HJ, Muhlhauser A, and Tilly JL : Prevention of maternal aging-associated oocyte aneuploidy and meiotic spindle defects in mice by dietary and genetic strategies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2011 ; 108 : 12319 – 12324.
- 13) Lengronne A, McIntyre J, Katou Y, Kanoh Y, Hopfner KP, Shirahige K, and Uhlmann F : Establishment of sister chromatid cohesion at the *S. cerevisiae* replication fork. *Mol. Cell.* 2006 ; 23 : 787 – 799.
- 14) Skibbens RV : Holding your own : establishing sister chromatid cohesion. *Genome Res.* 2000 ; 10 : 1664 – 1671.