

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 28 年 1 月 27 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所 属 機 関 名 佐賀大学
職 名 教授
研 究 代 表 者 副島 英伸

下記のとおり平成27年度の共同研究成果を報告します。
記

(課題番号:13013)

1. 共同研究課題名	エピゲノム・ゲノム解析による間葉性異形成胎盤(PMD)の原因遺伝子同定			
2. 共同研究目的	間葉性異形成胎盤(PMD)の原因遺伝子を同定するため、ゲノム科学リソース分野畑田教授とともに網羅的エピゲノム解析を行う。			
3. 共同研究期間	平成 27 年 4 月 1 日 ~ 平成 28 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 副島英伸	医学部	教授	研究統括、検体収集	
(分担研究者) 東元 健 青木 早織	医学部 医学部	助教 大学院生(特別研究学生)	エピゲノム・ゲノム解析 病理学的解析、エピゲノム解析	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	ゲノム科学リソース分野	氏 名	畑田出穂

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

間葉性異形成胎盤(Placental mesenchymal dysplasia:PMD)は、胞状奇胎と類似した囊胞状変化を呈するが、組織学的にはトロホブラストの異常増殖を認めない胎盤形態異常である。部分胞状奇胎や胎児共存奇胎との鑑別を要し、高率に早産、胎児発育不全(FGR)、胎児死亡(IUFD)を合併する。本研究では、病理組織学的に診断された症例を収集し、網羅的ゲノム・エピゲノム解析を行うことにより、原因遺伝子を同定し、分子遺伝学的診断開発のための基盤確立を目的とする。PMD の約 20%にインプリンティング疾患 Beckwith-Wiedemann 症候群を合併すること、androgenetic/biparental mosaic (Genome-wide paternal uniparental disomy mosaic: GWpUPD mosaic)を示す症例が報告されていることから、ゲノムインプリンティングとの関与が示唆されている。

今年度は昨年度に引き続き、集積した凍結 PMD 組織 21 検体を用いて、ゲノム解析として whole exome sequence(WES)解析と高密度一塩基多型(SNP)アレイ解析、エピゲノム解析として bisulfite-pyrosequencing 法を用いたインプリント DMR の包括的 DNA メチル化解析を行った。PMD 組織は、一つの検体の中で肉眼的 PMD 病変部位と肉眼的正常部位を示す場合があるため、19 例の肉眼的 PMD 病変部位と 16 例の肉眼的正常部位を解析した。このうち、5 例を WES 解析した。SNP アレイ解析では Affimetrix CytoScan HD を用いて、前例を解析した。bisulfite-pyrosequencing 法によるメチル化解析に当たっては、事前に 0%、25%、50%、75%、100%メチル化 DNA を用いて、予想メチル化と実測メチル化が一致するように primer をデザインし、定量性を確認した。

7. 共同研究の成果

(1)ゲノム解析

WES では原因となるような病的バリエーションを見いだせなかった。SNP アレイ解析では、複数の Copy Number Variation (CNV)を同定したが、すべてが Database of Genomic Variants に登録されていた。このため、遺伝子変異やコピー数異常が PMD の原因である可能性は低いと考えられた。一方、GWpUPD mosaic を 10 例の肉眼的 PMD 病変部位と 4 例の肉眼的正常部位で認めた。これらの結果から、ゲノム異常よりもエピゲノム異常、特にインプリンティング異常が PMD の原因である可能性が示唆された。

(2)エピゲノム解析

当初 68 カ所のインプリント DMR(Ubiquitous DMRs 51 カ所、Placenta specific DMRs 17 カ所)を解析対象としたが、正常胎盤で differential methylation を示さない座位を除外した結果、52 カ所のインプリント DMR (Ubiquitous DMRs 37 カ所、Placenta specific DMRs 15 カ所)が解析対象となった。GWpUPD mosaic 症例では多くの DMR で父性メチル化パターンを示し、androgenetic cell のモザイクであることが確認できた。一方、正常 biparental を示す検体を解析したところ、15 カ所の DMR で父性メチル化パターンを示した。このことから、特定の DMR のメチル化異常により、インプリント遺伝子の発現パターンが変化し、PMD の発症につながると考えられた。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載, 又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお, 論文の場合は, 別刷りを1部提出してください。)

なし。