

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2016.3) 16:40-41.

平成25・26年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 22) ヒト男性不妊症と習慣流産の原因遺伝子同定および臨床医学への応用

上田 寛人

22) ヒト男性不妊症と習慣流産の原因遺伝子同定および臨床医学への応用

研究代表者 上田 寛人

【目的】

現在非閉塞性無精子症患者のうちおよそ 20% が遺伝学的な素因が示唆されている¹⁾。これらの遺伝学的要因には Y 染色体の微小欠失及びある種の遺伝子異常が含まれる²⁾。Sin3 蛋白は大きな Sin3A 蛋白とそれに極めて類似した Sin3B 蛋白から構成され、転写因子として重要な役割を担っている³⁾。2012 年 Sin3A 遺伝子のノックアウトマウスが報告されその表現型はオスでは無精子症に起因する男性不妊症を呈し、また組織学的解析においては germ cell を精巣内に全く有しておらず、ヒトにおける Sertoli cell only syndrome いわゆる SCOS を呈していた⁴⁾。

そこで今回私は SIN3A 遺伝子の異常がヒト SCOS の原因ではないかとの仮説のもとに解析を行った。

【方法】

対象は文章によるインフォームドコンセントを得たのちに血液を採取した、組織学的に SCOS と診断された 80 名の日本人無精子症患者である。全ての患者において、精液検査は最低 2 回以上行い、また閉塞性無精子症、下垂体機能不全、精巣の外的損傷及び感染症既往のある患者は除外された。全ての対象患者は染色体の核型は正常であり、また Y 染色体の微小欠失を伴っていなかった。対象患者から血液を採取し、Genomic DNA を抽出し、SIN3A 遺伝子の全ての coding region に隣接するイントロン部位に primer を設定し、coding region において PCR 法及びダイレクトシーケンス解析を行い、mutation 解析を施行した。

【結果】

SIN3A 遺伝子の全ての coding region 及び隣接するイントロン領域は PCR 法により合計 20 個の PCR 産物が増幅され、PCR 産物はカラム精製法により精製されずぐさまダイレクトシーケンス解析が施行された。対象患者 80 名において、全てのシーケンス解析の結

果を解析したところ、coding region のいかなる領域においても mutation あるいは遺伝子多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) は認められなかった。

【考察】

80 名もの SCOS の日本人患者を解析したものの、mutation 及び SNP は全く検出されなかった。この結果から、マウスにおいては Sin3A 遺伝子をノックアウトすると、そのオスのマウスは SCOS の表現型を呈するものの、その現象はヒトでは異なるのではないかと考えられた。しかしながら、今回の研究では SCOS による無精子症患者は極めてまれであり、よってその解析数が限られている点、および今日までヒト SIN3A 遺伝子の coding region における多型部位が検出されていないため今後さらなる検討が望まれる。これまでノックアウトマウスの解析により無精子症を呈する数多くの遺伝子がマウスにおいては報告されている。しかし、今日までの研究においてそれらの遺伝子が必ずしもヒトにおいて忠実に再現されているわけではない^{5,6)}。

本研究において、解析された 80 名の日本人患者においてはヒト SIN3A 遺伝子でいかなる mutation も SNP も検出することができなかったが、本研究はヒト SIN3A 遺伝子とヒト男性不妊症における世界で最初の研究である。今後さらなる症例数を増やし再度解析するとともに、他の人種においても解析する必要があると考えられた。

【文献】

- 1) Gianotten L, Lombardi MP, Zwinderman AH, Lilford RJ and van der Veen F: Idiopathic impaired spermatogenesis: genetic epidemiology is unlikely to provide a short-cut to better understanding. *Hum. Reprod. Update.10*, 533-539 (2004)
- 2) Miyamoto T, Hasuike S, Yogeve L, Maduro MR, Ishikawa M, Westphal H and Lamb DJ: Azoospermia in patients heterozygous for a mutation in SYCP3. *Lancet* 362, 1714-1719 (2003)
- 3) Ayer DE, Lawrence QA and Eisenman RN: Mad-Max transcriptional repression is mediated by ternary complex formation with mammalian homologs of yeast repressor Sin3. *Cell* 80, 767-776 (1995)
- 4) Pellegrino J, Castrillon DH and David G: Chromatin

- associated Sin3A is essential for male germ cell lineage in the mouse. *Dev. Biol.* 369 , 349-355 (2012)
- 5) Borg CL, Wolski KM, Gibbs GM and O'Bryan MK: Phenotyping male infertility in the mouse: how to get the most out of a 'non-performer'. *Hum. Reprod. Update.* 16 , 205-224 (2010)
- 6) Seok J, Warren HS, Cuenca AG, Mindrinos MN, Baker HV, Xu W, Richards DR, McDonald-Smith GP, Gao H, Hennessy L, Finnerty CC, López CM, Honari S, Moore EE, Minei JP, Cuschieri J, Bankey PE, Johnson JL, Sperry J, Nathens AB, Billiar TR, West MA, Jeschke MG, Klein MB, Gamelli RL, Gibran NS, Brownstein BH, Miller-Graziano C, Calvano SE, Mason PH, Cobb JP, Rahme LG, Lowry SF, Maier RV, Moldawer LL, Herndon DN, Davis RW, Xiao W, Tompkins RG and Inflammation and Host Response to Injury, Large Scale Collaborative Research Program: Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 110 , 3507-3512 (2013)