

## 論文の内容の要旨

氏名：田 村 豪 良

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：Long-read sequence analysis for clustered genomic copy number aberrations revealed architectures of intricately intertwined rearrangements

(ロングリード解析による集簇したコピー数異常を呈した染色体の複雑構造異常の解明)

染色体構造異常のほとんどは染色体の 1 か所のみ異常を認める単純な構造異常である。それらは、具体的には染色体の部分欠失、部分重複、逆位、均衡型転座、不均衡型転座である。一方で、現在ではより複雑な構造異常も複数見出されている。複雑な構造異常とは染色体の切断点が 3 か所以上に及び、単純に 1 か所の構造異常だけではなく複数の構造異常が同時に認められるものである。これらは FISH 法などの従来の手法でも解析されてきたが、技術的限界、及び検査解像度の限界などから全容解明は困難であった。しかし近年、次世代シーケンス (NGS; Next-generation sequencing) を始めとする解析技術が発展し、1 個人のゲノム DNA の塩基配列決定がより簡便に施行可能となった。それにより従来は解析が困難であった複雑な染色体構造異常も詳細に構造決定が可能となり、現在ではその形成メカニズムについて関心が向けられている。例えば、PLP1 や MECP2 の周辺領域では、染色体重複領域に内在するよう (凸型) に 3 倍体領域が存在する異常が報告されており、これらの 3 倍体領域は逆位になっていることから duplication-inverted triplication-duplication (DUP-TRP/INV-DUP) と称されている。これらはゲノム反復配列が対になるよう存在している箇所をきっかけとした DNA 複製鎖の乗り換えと、Non-homologous end joining (NHEJ) や Fork stalling and template switching (FoSTeS), Microhomology-mediated break induced replication (MMBIR) などの染色体構造異常を惹起する根源的な機序が 2 段階に作用して形成されることが示されている。また不特定の染色体領域に同様の構造的特徴を有して検出される複雑構造異常も報告されている。Inverted-duplication-deletion (INV/DUP/DEL) などがその代表であり、その生成には 4 種類の仮説が提示されている。今回、染色体同腕にコピー数異常が集簇して縦列に 2 か所認められた、コピー数異常に共通の特徴を持つ希少な症例が 4 例認められた。それらの染色体構造の詳細を同定し、構造異常の形成に至ったメカニズムを解明するために、ロングリードシーケンス技術を用いて全ゲノム解析を行ない、構造異常の詳細な解析を試みた。結果、4 症例に認められた縦列したコピー数異常領域はいずれも単純には存在せず、より複雑な構造異常の一端をなしていたことが判明した。そしてうち 2 症例では、減数分裂中の染色体破砕に起因する Chromothripsis が形成機序として考えられた。他の 2 症例には、染色体の離断接続点にヒトゲノムには認められない長い塩基挿入が認められたことから、Polymerase  $\theta$  (Pol  $\theta$ ) を介する Alternative-NHEJ (Alt-NHEJ) が形成に関与したことが示唆された。これらの結果から、集簇して 2 か所以上のコピー数異常が確認される場合、更なる複雑構造異常を考慮する必要があると考えられた。また複雑構造異常は、構造異常による遺伝子の離断や融合などの直接的な修飾を越え、より広範囲の遺伝子発現に影響することが示唆されていることから、このようなコピー数異常が見出される場合、臨床診断においても注意を払う必要があることが示唆された。