

学内グラント 報告書

平成27年度 学内グラント終了時報告書

モデルマウスのエピジェネティクス解析による性同一性障害機序の解明

研究代表者 仲地 豊 (ゲノム医学研究センター)

緒言

われわれはゲノム科学および遺伝学の視点から、モデル動物による解析と当事者ゲノムによる解析の2つの手法をもちいて性同一性障害(性別違和, 以下GID)関連遺伝子の探索を進めている。本グラント研究では、性ホルモンに暴露させた新生仔マウス脳をもちいたアプローチによる解析をおこなったので報告する。

GID当事者は心と身体性の性別が一致しない状態にある^{1,2)}。GID当事者の多くは就学前から自身の性別への強い違和感を抱え、希死念慮は7割以上に及ぶ³⁾。GID診断には複数の専門医による長期的問診を要し、第2次性徴期にある若年当事者への医療的介入の遅れはその後の著しいQOL低下を招く。しかし若年GID当事者の一部は将来的に性別違和が緩解することがあり、また性ホルモン投与は体への不可逆的変化をもたらすことから、投与開始には慎重な判断が必要となる。疫学研究からGID当事者は1~3万人に1人の割合でいることから⁴⁾、そのため早期の確定診断やホルモン療法のリスク評価に利用できる診断基準の発見は急務であるものの、GIDバイオマーカーの開発に資するGID機序解明には至っていない。

近年の研究から、ヒトを含む哺乳類の性分化機構は進化的に保存されていることがわかってきている。性分化の臨界期である胎生期または新生仔期の脳が性ホルモンに曝露することで脳の性分化が誘導され、脳における性差や思春期後の性行動に影響を与える⁵⁾。組織学的な性差がみられる性的二型核とよばれる領域が脳では複数存在し、たとえばヒトやマウスの脳の分界条床核では特定の神経細胞の数に性差がある。このような分界条床核の特徴はGID当事者では身体より心の性別と一致することが報告されている⁶⁾。そのためGIDには性ホルモンを介した生物学的機序が予想されている⁷⁾。性ホルモン受容体やステロイド合成経路に着目した関連解析がこれまで複数の研究グループによりおこなわれてきたものの、GIDに強く関連する変異・多型はいまだ同定されていない⁸⁻¹⁷⁾。性腺発達や血中ホルモン濃度など、GID当事者の身体的な性分化は正常な場合が多い。特に性ホルモン受容体や性ホルモン代謝酵素の変異・多型は全身に影響し性分化

疾患の原因となるため、性ホルモン受容体や性ホルモン代謝酵素のみではGID機序は説明がつかないと考えられる。家族内集積性や双生児解析・同胞解析からGIDの遺伝的背景が示唆されているにも関わらず¹⁷⁻²⁰⁾、その遺伝率や遺伝様式も不明であり、依然としてGIDの生物学的機序は未解明なままである。

われわれの最近の研究²¹⁾で、男性ホルモンであるテストステロン投与した新生仔マウス脳をもちいた発現解析から、神経発生・神経分化や軸索誘導に関わる遺伝子群が脳の性分化期に有意に発現変化するだけでなく、300以上の未知遺伝子の発現変化が誘導されていた。この知見から、性ホルモン受容体やホルモン代謝酵素の変異がGID機序の主な原因ではなく、脳の性分化期特異的に性ホルモン受容体標的遺伝子やその下流経路の遺伝子に、脳の性分化関連遺伝子群が多数存在し、脳の性分化に生じた脳の性分化関連遺伝子群の発現変化やそれに伴う下流遺伝子の発現制御の変化がエピジェネティックな機構により維持されるという仮説を立てるに至った。

以上の仮説をふまえ、われわれはマウスをもちいて新生仔期から成獣期までの脳における遺伝子発現プロファイルおよびDNAメチル化動態プロファイルを時系列データとして採取し、網羅的に統合解析をおこなうことで、脳の性分化関連遺伝子群が担うGID機序の分子基盤を明らかにすることを目指している。本グラント研究ではその予備解析として、DNAメチル化動態の時系列プロファイルの取得条件を検討するゲノム領域の選定をおこなった。

材料と方法

われわれはこれまでに、性ステロイドホルモンであるプロピオン酸テストステロンを腹腔内投与した新生仔期の野生型マウス(C57BL/6J)の脳由来RNA(2日齢投与, 6日齢採取)をもちいた発現解析から、性ホルモン曝露により発現変化する遺伝子群を同定している²¹⁾。これらの遺伝子群が位置するゲノム上の周辺領域について配列解析をおこない、ヒト-マウス間で配列が保存されている領域およびCpG島の位置を探索することで、DNAメチル化動態の時系列プロファイルの取得条件を検討するゲノム領域を選定した。ゲノム配列情報と遺伝子情報はUCSC

Genome Browser²²⁾およびEnsembl²³⁾のデータを利用した。

結 果

われわれが同定した、性ホルモン暴露により脳の性分化期に発現変動する遺伝子のひとつであるマウス *Ott* (Ovary testis transcribed) 遺伝子は、成獣マウスの脳では発現しておらず、脳の性分化期である新生仔期の脳で発現している²¹⁾。マウス *Ott* 遺伝子周辺について配列解析をおこなったところ、周辺には *Ott* 遺伝子のマルチコピーがクラスターとして存在し、また近傍にはDNAメチル化の標的となるCpG領域も複数存在することがわかった。マウス *Ott* 遺伝子には配列全長にわたって高い類似性を示すようなヒト相同遺伝子は見つかっていないが、ヒトX染色体上のマウス *Ott* 遺伝子周辺の相同領域(シンテニー領域)を検索したところ、マウス *Ott* 遺伝子と同様の機能ドメインをもち、精巣特異的な発現プロファイルを示す遺伝子があらたに同定できたことから、マウス *Ott* 遺伝子周辺をDNAメチル化動態の時系列プロファイルの取得条件を検討するゲノム領域として選定した。

考 察

マウス *Ott* 遺伝子はX連鎖性の遺伝子だが、主に精巣で発現して精原細胞における重要な機能をもつことが知られている^{24, 25)}。成獣マウスでは性腺特異的な発現を示し中枢神経系では発現がみられないにも関わらず、脳の性分化期である新生仔期には脳で発現しており、かつその発現には性差がみられる²¹⁾。これまでヒト相同遺伝子は見つかっていなかったが、今回同定したヒト遺伝子はマウス *Ott* 遺伝子と機能的な相同性をもつことが予想される。今後はマウス *Ott* 遺伝子とその近傍領域をもちいてメチル化動態を検出するための条件検討をおこない、遺伝子発現とエピジェネティクスの時系列プロファイルを解析するとともに、今回同定したヒト遺伝子の機能解析も並行して進める予定である。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、埼玉医科大学ゲノム医学研究センタートランスレーショナルリサーチ部門・実験動物施設・ゲノム科学部門の皆様からの多大なご協力をいただきました。この場を借りまして感謝の意を表します。

引用文献

- 1) American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2013.
- 2) Coleman E, Bockting W, Botzer M, Cohen-Kettenis P, DeCuypere G, Feldman J, et al. Standards of care for the health of transsexual, transgender, and gender-nonconforming people, version 7. *Int J Transgend* 2014; 13: 165-232.
- 3) Suicidal ideation among patients with gender identity disorder. *Psychiatry Res* 2011; 190(1): 159-62.
- 4) Bakker A, van Kesteren PJ, Gooren LJ, Bezemer PD. The prevalence of transsexualism in The Netherlands. *Acta Psychiatr Scand* 1993; 87(4): 237-8.
- 5) Wu MV, Manoli DS, Fraser EJ, Coats JK, Tollkuhn J, Honda S, et al. Estrogen masculinizes neural pathways and sex-specific behaviors. *Cell* 2009; 139(1): 61-72.
- 6) Zhou JN, Hofman MA, Gooren LJ, Swaab DF. A sex difference in the human brain and its relation to transsexualism. *Nature* 1995; 378(6552): 68-70.
- 7) Bao AM, Swaab DF. Sexual differentiation of the human brain: relation to gender identity, sexual orientation and neuropsychiatric disorders. *Front Neuroendocrinol* 2011; 32(2): 214-26.
- 8) Henningson S, Westberg L, Nilsson S, Lundström B, Ekselius L, Bodlund O, et al. Sex steroid-related genes and male-to-female transsexualism. *Psychoneuroendocrinol* 2005; 30(7): 657-64.
- 9) Bentz EK, Schneeberger C, Hefler LA, van Trotsenburg M, Kaufmann U, Huber JC, et al. A common polymorphism of the SRD5A2 gene and transsexualism. *Reprod Sci* 2007; 14(7): 705-9.
- 10) Bentz EK, Hefler LA, Kaufmann U, Huber JC, Kolbus A, Tempfer CB. A polymorphism of the CYP17 gene related to sex steroid metabolism is associated with female-to-male but not male-to-female transsexualism. *Fertil Steril* 2008; 90(1): 56-59.
- 11) Hare L, Bernard P, Sánchez FJ, Baird PN, Vilain E, Kennedy T, et al. Androgen receptor repeat length polymorphism associated with male-to-female transsexualism. *Biol Psychiatry* 2009; 65(1): 93-6.
- 12) Ujike H, Otani K, Nakatsuka M, Ishii K, Sasaki A, Oishi T, et al. Association study of gender identity disorder and sex hormone-related genes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009; 33(7): 1241-4.
- 13) Fernández R, Esteva I, Gómez-Gil E, Rumbo T, Almaraz MC, Roda E, et al. The (CA)_n polymorphism of ERβ gene is associated with FtM transsexualism. *J Sex Med* 2014; 11(3): 720-8.
- 14) Fernández R, Esteva I, Gómez-Gil E, Rumbo T, Almaraz MC, Roda E, et al. Association study of ERβ, AR, and CYP19A1 genes and MtF transsexualism. *J Sex Med* 2014; 11(12): 2986-94.
- 15) Fernández R, Cortés-Cortés J, Esteva I, Gómez-Gil E, Almaraz MC, Lema E, et al. The CYP17 MspA1 Polymorphism and the Gender Dysphoria. *J Sex Med* 2015; 12(6): 1329-33.
- 16) Shabir I, Khurana ML, Joseph AA, Eunice M, Mehta M,

- Ammini AC. Phenotype, genotype and gender identity in a large cohort of patients from India with 5 α -reductase 2 deficiency. *Andrology* 2015; 3(6): 1132-9.
- 17) Green R. Family cooccurrence of “gender dysphoria”: ten sibling or parent-child pairs. *Arch Sex Behav* 2000; 29(5): 499-507.
- 18) Coolidge FL, Thede LL, Young SE. The heritability of gender identity disorder in a child and adolescent twin sample. *Behav Genet* 2002; 32(4): 251-7.
- 19) Gómez-Gil E, Esteva I, Almaraz MC, Pasaro E, Segovia S, Guillamon A. Familiality of gender identity disorder in non-twin siblings. *Arch Sex Behav* 2010; 39(2): 546-52.
- 20) Heylens G, De Cuypere G, Zucker KJ, Schelfaut C, Elaut E, Vanden Bossche H, et al. Gender identity disorder in twins: a review of the case report literature. *J Sex Med* 2012; 9(3): 751-7.
- 21) Nakachi Y, Iseki M, Yokoo T, Mizuno Y, Okazaki Y. Gene expression profile of the neonatal female mouse brain after administration of testosterone propionate. *J Sex Med* 2015; 12(4): 887-96.
- 22) Kent WJ, Sugnet CW, Furey TS, Roskin KM, Pringle TH, Zahler AM, et al. The human genome browser at UCSC. *Genome Res* 2002; 12(6): 996-1006.
- 23) Cunningham F, Amode MR, Barrell D, Beal K, Billis K, Brent S, et al. Ensembl 2015. *Nucleic Acids Res* 2015; 43(Database issue): D662-9.
- 24) Kerr SM, Taggart MH, Lee M, Cooke HJ. Ott, a mouse X-linked multigene family expressed specifically during meiosis. *Hum Mol Genet* 1996; 5(8): 1139-48.
- 25) Wang PJ, McCarrey JR, Yang F, Page DC. An abundance of X-linked genes expressed in spermatogonia. *Nat Genet* 2001; 27(4): 422-6.

研究成果リスト

学会発表

- 1) 仲地 豊. 超列高速シーケンサーによる性同一性障害当事者ゲノムDNAをもちいた全エクソーム解析. *GID (性同一性障害) 学会第18回研究大会*, 2015年3月, 東京都千代田区
- 2) 仲地 豊, 金沢徹文, 伊関美緒子, 横尾友隆, 水野洋介, 康純, 米田 博, 岡崎康司. 性別違和(性同一性障害)関連遺伝子の探索: マウス発現解析とヒトエクソーム解析によるアプローチ. 第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2015), 2015年12月, 兵庫県神戸市
- 3) 仲地 豊, 伊関美緒子, 横尾友隆, 水野洋介, 岡崎康司. 新生仔雌マウス脳での遺伝子発現解析による性別違和(性同一性障害)関連遺伝子の探索. 第35回日本性科学学会学術講演, 2015年10月, 埼玉県さいたま市