

【総説】

ゲノム病としての男性不妊症  
—Y染色体とAZF (Azoospermia factor) からさぐる—

Male in fertility as genomic disease  
—The exploration form Y chromosome and AZF—

金沢大学大学院医学系研究科  
集学的治療学 (泌尿器科学)  
高 栄 哲

1. はじめに

「日本人縄文系は精子数が低い」、端緒は共同研究をした黒木の論文(Kuroki, Spermatogenic ability is different among males in different Y chromosome lineage J Hum Genet 44: 289-292, 1999)に始まる。2003年Y染色体ゲノムの塩基配列が明らかにされると、縄文系に分類される日本人男性に精子形成候補領域AZF (Azoospermia factor) c領域の1.6Mbに至る大きい欠失があったからである。この問いに対する答えは、この領域のパリンドローム構造から導きだされる。さらに、ハプロイドとしてY染色体のゲノム構造と特徴からゲノム病としてAZFの異常について考える。また、アフリカから由来するという現世人類の母系ミトコンドリア・イブと、父系Y染色体アダムとの系譜について、12,000年前に日本列島に達した縄文系と農耕とともに2,300年前に日本列島に達した弥生系のY染色体ハプログループの分類について述べる。

2. Y染色体の構造と概略

1) Y染色体の構造

Y染色体のサイズは約50-60Mbであり、X染色体の1/3の大きさに過ぎない。性染色体両端には偽常染色体領域PAR (pseudoautosomal region)が存在し、サイズの異なる性染色体ペアの受動的な対合を保証している。また、PARを除いた部分は、真性クロマチン(euchromatine)部と異質クロマチン(heterochromatine)部とに分けられる(図1a)。

真性クロマチン部のサイズは約24Mbであり、短腕上に8Mb、

長腕上に14Mbである。異質クロマチン部はセントロメア部の約1Mbの領域と長腕遠位側にある約40Mbの部分であり<sup>2)</sup>、そのサイズにはさまざまなバリエーションがある。

2) Y染色体のゲノム塩基配列

2003年にY染色体の全物理学的配列が確定し<sup>3)</sup>、さまざまな構造的特徴が明らかとなった。真性クロマチン部は、その由来からX-transpose, X-degenerate, ampliconicの3領域に分けられ、モザイク状に配されている(図1a)。前者の2つの領域は、そもそも古代常染色体由来であるが、後者はY染色体特異的構造である。このampliconic領域の99%以上は極めて高い相同性と長い繰り返し配列をもつことが特徴である。

Y染色体は当初ジャンク染色体と称され、ヒト進化の過程で常染色体の廃棄場所と考えられていた。特に性染色体はX染色体とペアを組み、常染色体とは全く異なる対合を行う。すなわち、両性染色体末端にはPARがあり、この部位のみで対合が生じる。したがって、PAR以外では、X染色体と再組み換えができない。これの意味するところは、頻繁に生じるという突然変異の圧力に対して修復のための鋳型がなく、変異が蓄積し近い将来消失の運命にあると考えられていた。

ところで、Y染色体上のPAR以外の領域をNon Recombinant Region (NRY)と呼ばれていたが、実際、再組換えが頻回に行われていることが知られ、現在ではMSY (Men specific region of Y)と修正されている<sup>4)</sup>。さらに、Y染色体ゲノムの変異は父親から息子のみ継承されるので、父系のヒトの進化の痕跡をゲノム内に蓄積し続けることになる。

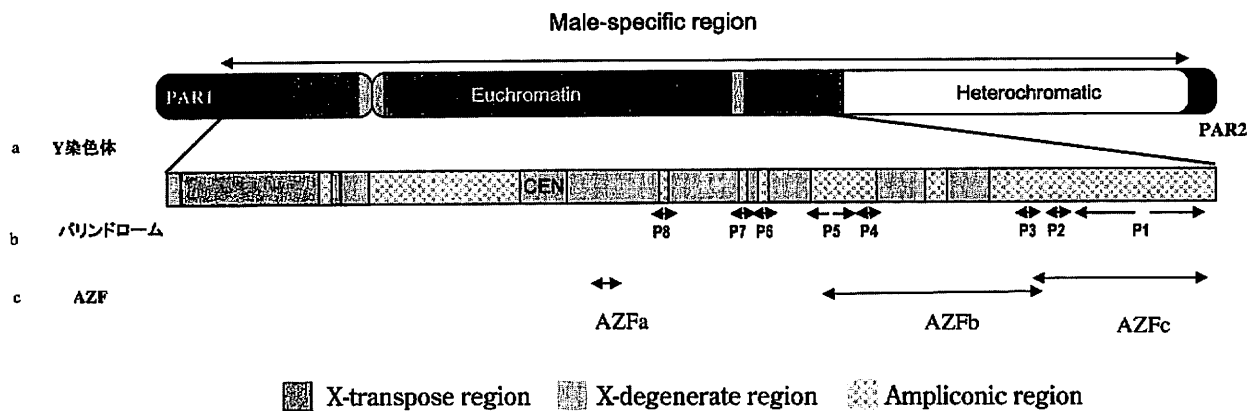


図1 Y染色体とゲノム構造

3. ゲノムのリピート配列と機能

ヒトゲノムのリピート構造は常染色体のみならずY染色体にも存在する。

1) 再組み換えによって、ヒトゲノムが再構成される

染色体間の再組換えは常染色体では相同染色体間、性染色体ではY染色体とX染色体のPAR間の対合によって行われるのみならず、同一染色体内において、つまり相同ペアなしでも相同組み換え (homologous recombination) が生じ得る。その結果同一染色体内での再構成 (rearrangement) が生じ、欠失、重複などが生じる可能性がある<sup>39)</sup>。

2) 直接リピートによるゲノム再構成

染色体上での **introchromosomal homologous recombination** (染色体内相同再組み換え) について考えてみる。図2のABCDはある染色体のリピート配列であり、その対合相手の姉妹染色体にA' B' C' D' の配列も存在する。これらの染色体上の相同配列をaとした。

①は相同塩基配列A' B' C' D' のa3とABCDのa2内の配列間で再組み換えが生じた結果 (乗り換え)、A' D' の染色体再構成物が生じる。その結果、a1とa4が欠失する。一方、②の場合はa2とa3間で再組み換えが生じ、a1, (a2, a3融合産物), a4の新たに3コピー染色体構成物が生じる (重複)。

3) 染色体再構成はハプロイドY染色体でも起こる。

染色体再組み換えは **reciprocal strand exchange** (DNA鎖相互交換) で説明され、相同染色体間の対合によって生じる。では、対合相手をもたない、いいかえればPAR以外再組み換え相手がないY染色体は染色体再構成が行われるであろうか。

この問いに対する答えは、染色体再構成の条件は、相同配列が同一染色体内に縦列に並んでいるだけで十分であり<sup>40)</sup>、実際染色体内相同組み換えは (Y染色体で) 頻回に生じている。

4) 相同組み換えの条件

ヒトゲノムの塩基配列は、5-10%程度重複している。また、1kb以上のサイズで2コピー以上をもつものはゲノム配列の5-7%程度と見積もられている<sup>39)</sup>。このような、多コピー性、リピ

ート配列は、古代のレトロウイルスなどの感染や、いわゆるトランスポゾンによるリピート配列の挿入が霊長類への進化のある時期に爆発的起こったとされている。そして、進化の痕跡を自らのゲノムに残していると考えられる。ゲノム内のリピートがDNAの再構成の原動力になる。ゲノム再構成に必要な相同塩基配列は、リピートが **paralogous** (同一DNA鎖に載っている) に存在していること、直接リピートなら300-500bpの97%以上の同一配列をもつ、最低でも約200-300bpの相同配列が必要であるとされている<sup>39)</sup>。

4. Y染色体とパリンドローム構造

Y染色体には図1bに示したように8カ所のパリンドローム構造 (P1~P8) をもつ。パリンドローム構造とは回文構造のことである。図3に示したように、左右の矢印内にある塩基配列が相同性と相補性を保っている。すなわち、局所的な相同染色体に相当し、対合状態を形成できることである。これは、Y染色体の再構成が淘汰圧を減ずる作用があると考えられている。

Y染色体の8つのパリンドローム構造のサイズは真性クロマチン全体の約半分弱をしめる<sup>41)</sup>。とくに、P1はさらに小さなパリンドローム単位、アンプリコンに分割され、アンプリコン複合体を形成している。

図4に、P5からP1までのパリンドローム構造を示した。各アンプリコンの分類は色塗りによって分類されている<sup>42)</sup> (本稿では予算の関係でカラーにはできなかった)。たとえば、b (blue) アンプリコンは青色に、r (red) アンプリコンは赤色のように色分けされている。また、b (blue) はb1からb6まで6つのアンプリコンがあり、方向 (矢印) の一致するものの塩基配列はほぼ同一であり、逆方向のアンプリコンの塩基配列は相補的である。矢印は右方向が5'→3'の下流を指す。したがって、P1は(b3,4), (yel1,2), (g2,3), (r3,4)のアンプリコン単位で構成され、全体としてはr3とr4の間を対称軸とした大きなパリンドロームを形成する<sup>43)</sup>。

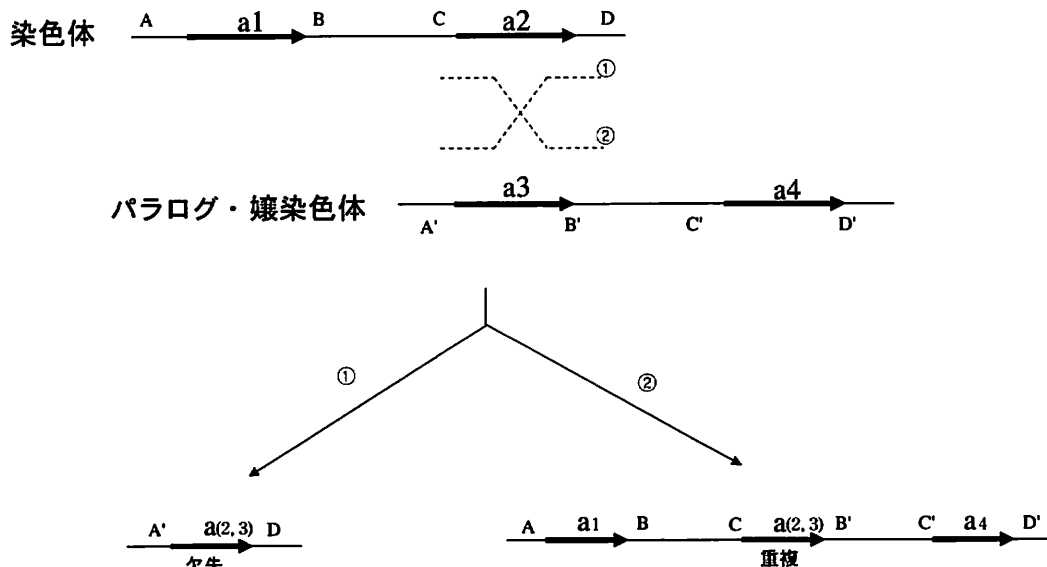


図2. 直接リピート (Direct repeats) による相同組み換えによる決失と重複

5. Y染色体遠位側に精子形成候補領域AZFが存在する。

1) AZFの定義

Y染色体は、男性に特異的であり、この長腕欠失者の多くが無精子症であった。したがって、この領域に精子形成遺伝子が存在すると考えられていた。1976年Tiepoloらは、Y染色体長腕遠位部の精子形成候補領域をAZFと称した。さらに、1996年Vogtらは無・乏精子症患者のY染色体長腕上の微小欠失と精巣の組織表現型と比較した結果、3領域に微小欠失が集中していることを明らかにし、AZFa, b, cと分類した(図1c, 図4上)<sup>9)</sup>。

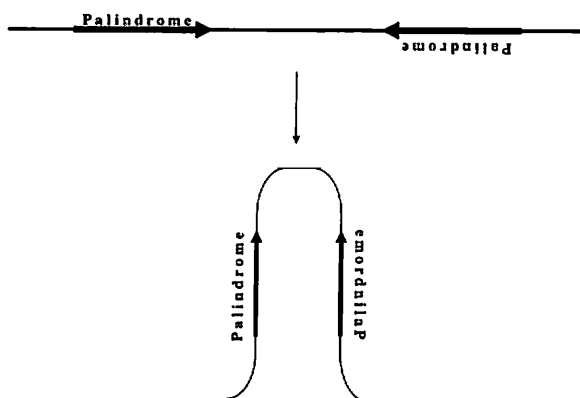


図3. パリンドローム構造

さらに、表現型としてAZFa欠失者の精巣組織型はSertoli cell only syndrome(SCO), AZFb欠失者はmaturation arrestで止まり、AZFc欠失者は様々な組織型を示していた<sup>9)</sup>。現在、AZFa,b,c領域を目安にした欠失分類が臨床的に汎用されている。

2) AZF欠失とゲノム構造

Y染色体ゲノムの解読によって、さまざまな構造的な特徴が明らかになっている。図1cに示したようにAZFaは長腕に存在し、直接リピートをもつ(図5)。AZFb, cはパリンドロームP1からP5にあるとともに、直接リピートをもつ。さらに、それぞれに対応したDNA再構成をみる事ができる。

6. AZF領域の欠失は染色体内再組み換えの結果ゲノム再編成による

1) AZFaの欠失機序

AZFaの欠失はヒト内因性レトロウイルスHERV (human endogenous retrovirus) によると考えられている。全ゲノム配列中タンパクをコードする塩基配列は3%にすぎず、イントロン部を含めても30%程度である。しかし残りの配列はAlu配列などのトランスポゾン系やHERV由来である<sup>9)</sup>。

AZFa領域には直接リピート構造をもつ、HERV Iが存在する(図5)。これは、ヒトが霊長類に進化する以前の過程で組み込まれたレトロウイルスの塩基配列である<sup>9)</sup>。HERV Iは5,000万年前にヒト由来ゲノムに入りこんだと考えられている。直列リピートの2ヶのHERV15yq1とHERV15yq2は約10kbであり、両者の

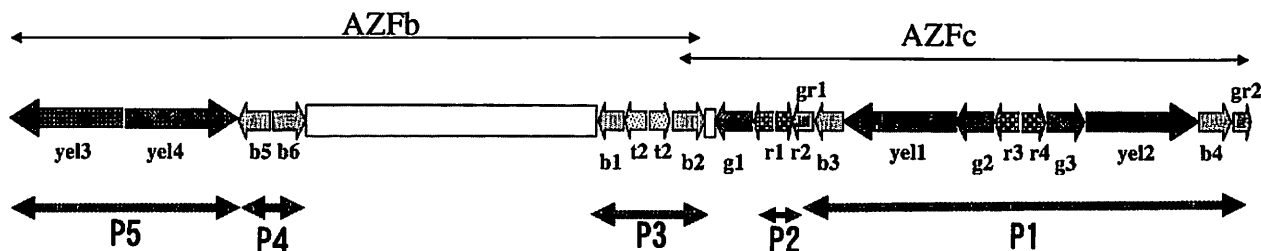


図4. Y染色体遠位部のパリンドローム複合体

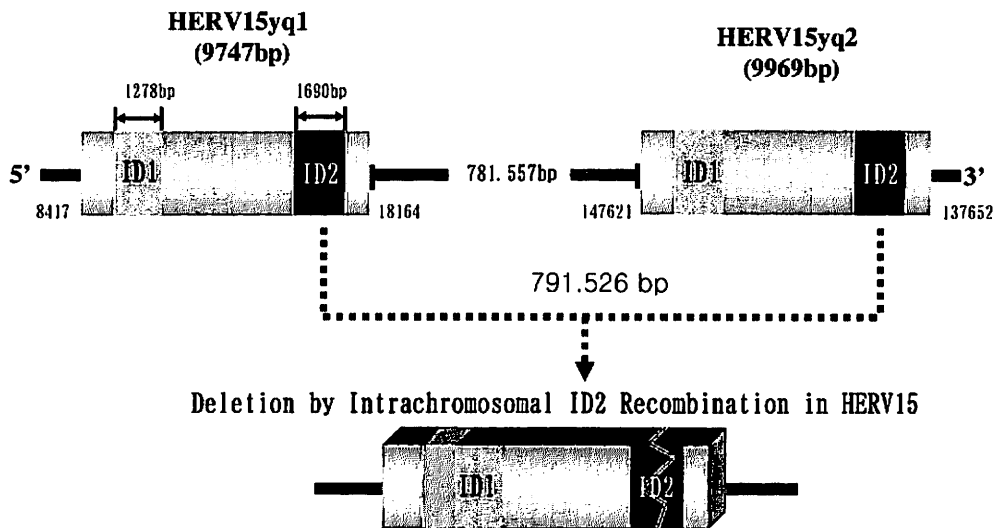


図5. HERVIによるAZFaの欠失の機序

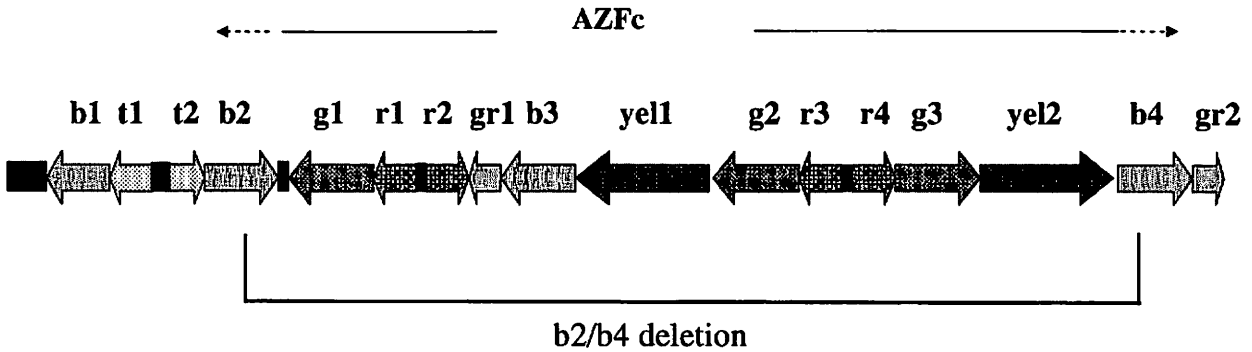
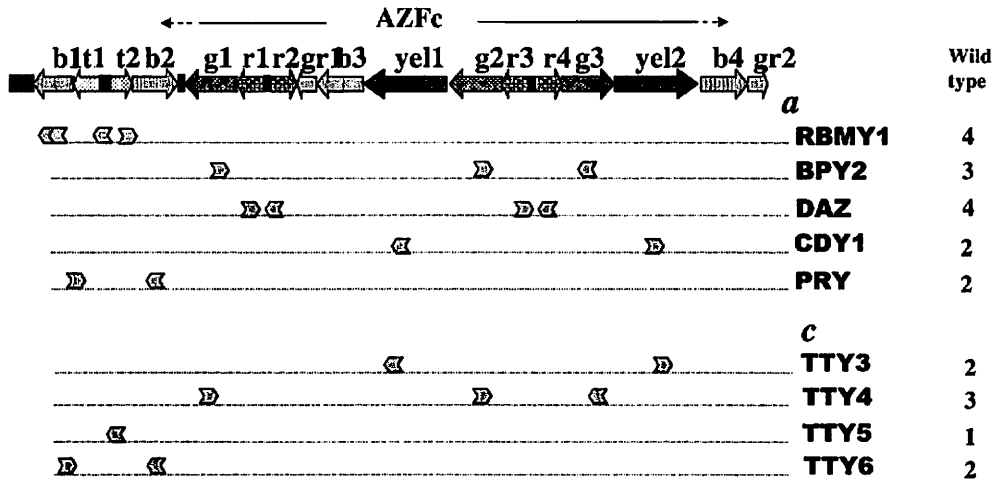


図6. AZFc領域の小さなリピート配列複合体とその方向



a: 発現遺伝子  
c: 非コード転写物

図7. AZFcパルンドローム複合体領域の転写物

距離は800 kbある。これら2つのHERVにはそれぞれ、1,278bpと1,690bpの全く相同な塩基配列ID1, ID2が同方向に存在する。このID1およびID2において、相同再組み換えが生じゲノム再構成が生じ、その結果欠失が生じる。われわれは、1,033例の不妊外来受診者のうち4例のみしかこの欠失を見いだしていない。この欠失をもった個体は、無精子症であり子孫を残せない。すなわち、5,000年後にゲノムの再構成によって、レトロエレメントが目醒めたとも考えられる。われわれの確認した4例はすべてID2での再組み換えによるものであった。

2) AZFb, cの欠失機序

AZFb, cゲノムの特徴は、パルンドローム複合体にある。図4に示した同方向の矢印と種類が等しければ、理論的に再組み換えが生じる可能性があり、ある確率で生じる。また、構成されるアンプリコンの方向と塩基配列が等しい限り、さまざまな種類の組み合わせがいくつも考えられる。

3) AZFc欠失 (b2/b4欠失)

AZFc欠失はY染色体微小欠失で最も頻度が高い。この欠失の理論的機序が、ゲノムの再構成で説明できる。

b2とb4はほぼ等しい塩基相同性 (99.9%以上) と方向性をもつ (図6) 直接リピートである。したがって、b2, b4アンプリコン

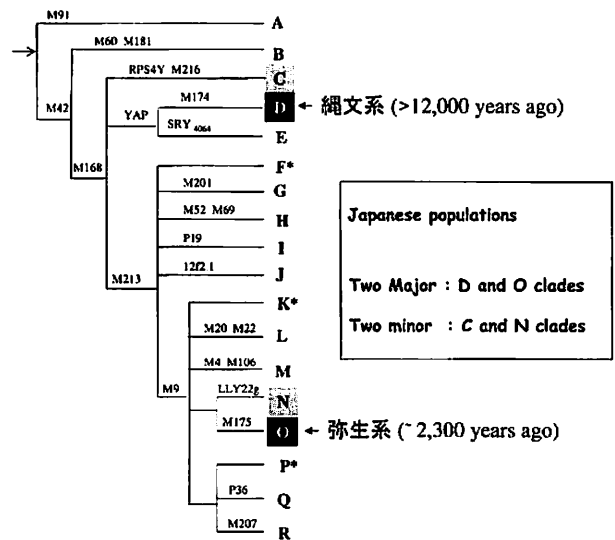


図8. Y染色体のハプログループによる分類

間の相同再組換えが生じた結果、ゲノム再構成によって、その内部が欠失する。この領域は約1.8Mbにも及ぶかなり大きな領域である<sup>7)</sup>。AZFc欠失の大半は、この欠失で説明できる。

#### 4) AZFc部分欠失 (gr/gr 欠失)

AZFcはパリンドローム複合体である。これは図6に示したようにアンプリコン候補セット(g1, g2), (r1, r3), (r2, r4)の再組換えによる欠失が考えられる。面白いことにgr/gr欠失は、わが国では正常妊孕性をもつ男子に少なからずみられ(縄文系日本男性)、1.6Mb欠失をもち、比較的広い範囲の欠失である。しかしながら、この欠失によって精子数減少はないとされている。

#### 5) AZFc領域の発現遺伝子および転写物

AZFcは図7に示すような、アンプリコン集合体である。図7aには、この領域の発現遺伝子があり、図7bには非コード転写物がある。各遺伝子の右端には各遺伝子のコピー数を示した。全AZFc領域欠失は図7aに示したPRY以外の発現遺伝子が欠失する。

一方、AZFc領域部分欠失であるgr/gr欠失は、多コピー性遺伝子量の減少はあるも、発現の欠失がない。そのために、gr/gr欠失は精子形成に影響を与えないと考えられている<sup>8)</sup>。AZFc領域の半分以上の欠失が存在するにもかかわらず、精子数の減少がない理由である。gr/gr欠失は日本人の1/3の男性に存在し、Y染色体コンソシアムのハプログループDに分類されている(図8)<sup>9)</sup>。

## 7. Y染色体のハプログループ

### 1) ヒトの男系系統図

すでにミトコンドリアのDNA分析によってヒトの起源、ならびにヒトの地理的移動の様式が明らかにされている。ミトコンドリアDNAは母系の分子系統図を確定するのに利用されている。一方、父系の系統図はY染色体で行われる。Y染色体は父から男児のみに受け継がれことは前述した。

現在、47の主な系統が分岐分類されている<sup>10)</sup>。

わが国では、大きく縄文、弥生系に分けることができ、簡便なPCR法(YAPというプライマー)によって分類可能である<sup>10)</sup>。一般に系統図からは出アフリカ(out of Africa)の現生人類の系譜をたどることができる。図8のDに分類される縄文系は12,000年前に、弥生系はOに分類され、約2,300年前に日本列島にたどりついたと考えられている<sup>10)</sup>。

### 最後に

AZFの微小欠失は、現在ゲノム再構成によるゲノム異常の概念として理解することができる。染色体内相同組換えは比較

的頻回に生じていると報告があるが、あるハプログループが現在まで存続し得ている(gr/gr欠失など)のは本質的な遺伝子が障害されなかった、あるいは多コピー性の遺伝子のため代償される。Y染色体長腕のパリンドローム構造は多コピー遺伝子を維持する機構として優れており、消失の運命にないようである。

## 文 献

- 1) Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Brown LG, et al. The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men. *Nat Genet* 29 : 279-286, 2001
- 2) Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* 423 : 825-837 2003
- 3) Stankiewicz P, Lupski JR. Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends Genet* 18 : 78-84 2002
- 4) Lupski JR. Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends Genet* 1998 ;14 : 417.
- 5) Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. : *Hum Mol Genet* 5 : 933-943 1996
- 6) Bosch E, Jobling MA. Duplications of the AZFa region of the human Y chromosome are mediated by homologous recombination between HERVs and are compatible with male fertility. *Hum Mol Genet* 12 : 341-347 2003
- 7) Repping S, van Daalen SK, Korver CM, et al. A family of human Y chromosomes has dispersed throughout northern Eurasia despite a 1.8-Mb deletion in the azoospermia factor c region. *Genomics* 83 :1046-1052 2004
- 8) Repping S, Skaletsky H, Lange J, et al. Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes massive deletions and spermatogenic failure. *Am J Hum Genet* 71 : 906-922 2002
- 9) Y Chromosome Consortium. A nomenclature system for the tree of human Y-chromosomal binary haplogroups. *Genome Res* 12 : 339-348 2002
- 10) Hammer MF, Karafet TM, Park H, et al. Dual origins of the Japanese: common ground for hunter-gatherer and farmer Y chromosomes. *J Hum Genet* 51: 47-58 2006