

5. 考察

5.1. mtDNA コントロール領域の多型

Budowle B らは日本人において 16223T、16362C、73G、263G の SNPs がもっとも普遍的であると報告している⁷⁶。今回の報告もこれを裏付けるものとなった。この 16223、16362、73、263 の 4 塩基部位について今まで報告されている変異を人種別に Table 9 に示す。16223 において明らかに Asian と Caucasian の間に割合の差異が認められる。しかし、今回の我々のデータにおける 16223C→T の割合は Seo らが報告している日本人の割合より低い⁷⁷。ほかの Asian と比較すると、中国香港人は 55%、韓国人は 78%、モンゴル人は 56.5% と同じアジア間においてもばらつきがあるようである。Seo らのサンプルは宮崎のものであり、日本人間においても地域差が存在するのか、更なるデータベースの検索が必要と思われる。16362T→C も人種間において割合に違いが認められるが、我々のデータは 11.7% と明らかに今までの Asian の報告より少ない。さらに我々のデータでは 120 例中 16362T→C を 16 例認めたが、まだ報告のない 16362T→G も 14 例とほぼ同数認めた。この割合は比較的多く、これが Asian や他人種にも認められるのか更なる調査が必要と考えられる。

今回はそのほかにも多数の新しい SNPs が確認された。HV2 に関しては、330 以降の多型解析の報告が少ないことも一因であると思われる。健常人におけるコントロール領域の多型はほぼ全塩基に及ぶことが予想される。逆に同部位が mtDNA 複製・転写の調節を行っていることは周知のことであり、健常人において変異が認められない部位は生命維持に重要な機能を果たしている可能性も示唆される。また反対に、Mitomap⁷⁶ によると悪性細胞内にて確認された変異も存在し、今回の我々のデータにおいては 16170A→G が確認されている。これは Caucasian における Lung Cancer Cell にて認められたものであるが、我々のデータでは健常人において 8 例確認されており、病的意義については疑問な点も存在する。点変異を病的意義と直結はできないが、健常人における SNPs 解析は、裏を返せば mtDNA 機能の解明につながるのかもしれない。

また今回、同試料において、数回シーケンスを繰り返したにもかかわらず、2 塩基以上のピークが認められ、解析不能であった塩基部位(N)が多数認められた。N を多数認めた塩基配列は HV1 領域で 16091 10%、16120 7.6%、16098 5.2%、HV2 領域では 384 と 381 3.0%であったが、SNPs と N の局在には特に相互関係は認められなかった。N の存在は健常人におけるヘテロプラスミーの存在を示唆しているかもしれない。

今まで、ヘテロプラスミーは異常状態であり、健常人においては全 mtDNA においてホモプラスミー状態であるとされていた。しかし最近、Grzybowski らが毛根の mtDNA において 30% と高い頻度のヘテロプラスミーが存在すると報告した⁷⁸。これはヘテロプラスミーの存在が必ずしも臨床における異常状態の誘因ではないことを示唆している。しかし、健常人におけるヘテロプラスミーの割合はほとんど知られておらず、日本人においてはその

正確な頻度はわかっていない。ヘテロプラスミーの存在については今後さらに検討の余地があるものと思われる。

5.2. 性染色体異常と mtDNA 変異の関連

性染色体異常症として知られている Klinefelter 症候群は、犯罪者集団においては高頻度で見られると報告されている⁷⁹。また、Turner 症候群は内臓奇形合併率が高く突然死亡率が高い⁸⁰。さらに、疾患の特徴、社会的背景から DNA 鑑定に対する需要も高まってきている。今までに Klinefelter 症候群と合併した mtDNA 病が数例報告されているが^{81,82}、その関連については明らかにされていない。お互い相関して生じているのか、別の同じ原因からそれぞれの疾患が生じているのか、それとも偶然なのか、mtDNA 変異と性染色体異常症の関連について検討することは、双方の発生機序を理解するのに一役を担うと思われる。

5.2.1. Klinefelter 症候群

Klinefelter 症候群は 47XXY の性染色体異常であり、新生児男児の 0.2%、無精子症患者の 20%といわれている^{83,84}。47XXY のほかに 48XXXY、49XXXXY などの重型も存在する。肉眼的に類宦官様体型といわれる高身長、四肢の長さの特徴があり、外性器は男性型だがマイクロペニス、尿道下裂等の外性器奇形や女性化乳房を認める。一般に不妊であり、第 2 次性徴発育不全や男性不妊で発見されることが多い。一部の患者は知的障害を持ち、意志薄弱、幼稚性、抑鬱状態などの行動異常を示すものがあり、犯罪に加担する率が高いとの報告がある。

すでに、我々は mtDNA コントロール領域において Klinefelter 症候群 8 例に共通した特有のハプロタイプが存在すること、さらにこのハプロタイプは非常にまれであることを報告している⁸⁵。これは、このハプロタイプが性染色体異常症の発生に何らかの寄与をしていると推測せざるを得ない。さらに過去の研究でこの 8 例の Klinefelter 症候群における Y-STR ハプロタイプが同一であり、特に SNPs が DYS390 に共通して観察されたことを報告している⁷⁴。すなわち、父性遺伝の Y-STR と母性遺伝の mtDNA が Klinefelter 症候群の発症になんらかの協調、もしくは相互作用を果たす可能性があることを示唆している。

今回は、日本人 Klinefelter 症候群の子とその母において特異的塩基配列が母系遺伝していないという興味深いデータが得られた。これは、その特徴から母子鑑定に最も有効であるとされていた mtDNA 多型に混乱を生じるものとなりうる。mtDNA が母系遺伝する機序に、精子由来の mtDNA が受精直後にほとんどすべて排除されることが一因として報告されている⁸⁶。今回の Klinefelter 症候群症例は精細胞の減数分裂異常で 24XY と母の 23X が受精したものであり、受精時における父性由来成分の不均衡が関与しているのかもしれない。母系遺伝という特徴を持つ mtDNA が受精と細胞分裂にどのように関与しているのか、

さらにはそもそも関与しているのかさえわかっていない。Klinefelter 症候群における父性由来の X 染色体異常は第 1 成熟分裂時の染色体不分離に関与しているが⁸²、この時期はボトルネック効果によると最も mtDNA が減少している時期でもある。Cohen らは不妊女性卵へのドナー女性卵子細胞質と夫精子の移植により受精に成功し、受精卵を移植後妊娠 16 週に羊水細胞分析を行ったところ、mtDNA はホモプラスミーであったことを報告している⁸⁷。また、男性不妊に関しても mtDNA 異常が一因となるという報告もある⁸⁸。さらに、mtDNA 9055G→A 11719G→A の変異と精子運動性及び精子数に関連を認めたという報告もある⁸⁹。一方、Klinefelter 症候群を伴ったミトコンドリア病としての報告は Kearns-Sayre 症候群 (KSS) 2 例^{81,82}、MELAS 1 例⁹⁰のみであるが会議録でさらに何例か散見される。mtDNA 点変異が病因とされる Leber 病も男性罹患者が多いことから X 染色体との関連も支持されている⁹¹。いまだ断片的な情報しかないが、mtDNA は性染色体同様、受精時や細胞分裂期に影響を受けたり、与えたりしているのかもしれない。

5.2.2. Turner 症候群

Turner 症候群は 45XO の性染色体異常であるが、そのほかにも、46X,i(Xq)、46,X,Xp- や 45,X/46,XX、45,X/46,XX/47,XXX などのモザイクも多種存在する。Turner 症候群は新生児女児の 0.04%、45XO に限ると 0.01%であるが、自然流産胎児においては最も多い染色体異常であり、その 10%を占める。すなわち、45XO 染色体のうち 99.7%は淘汰されてしまう計算となる⁸⁰。

Turner 症候群の診断基準は、1) 低身長、2) 外性器小児様発育、3) 索状性腺(streak gonad)を伴った性腺機能不全、4) 女性表現型、5) X 染色体短腕モノソミーの 5 つであるが、加えて内臓奇形を伴うことが多く、心奇形、大動脈縮窄症、腎奇形(馬蹄腎)、腸回転異常等があげられる。乳児期の死亡にはこの合併症によるものが多いが、同じ Turner 症候群における自然流産胎児と出生児の間の違いは明らかにされていない。

本症例の Turner 症候群は Klinefelter 症候群同様、mtDNA コントロール領域において母子間での不一致を認めた。その不一致は母の mtDNA コントロール領域に塩基挿入が見られたものであり、受精後に母由来の mtDNA が変異した可能性が高いと思われる。これは、受精や細胞分裂時に性染色体や mtDNA に何らかの影響が及んだ結果を見ているのかもしれない。性染色体と mtDNA との関連について、今後さらに研究を重ねる余地があるものと思われる。

6. 結論

本研究はすでに知られている mtDNA の特徴である、母系遺伝、マルチコピー、高変異率を活かして、法医学分野の中核である個人識別の精度向上の一端を担うべく行ったもの