

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名 「染色体転座・微細欠失からの疾病遺伝子の単離と解析」

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

新川 詔夫 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科付属  
原爆後障害医療研究施設 教授)

主たる共同研究者

添田 栄一 ((有)ジェノテックス 研究員)

福嶋 義光 (信州大学 医学部 教授)

成富 研二 (琉球大学 医学部 教授)

大橋 博文 (埼玉小児医療センター 科長)

阿部 京子 (株九州メディカルサイエンス 部長)

高橋 規朗 ((財)放射線影響研究所 室長)

永井 敏郎 (獨協医科大学越谷病院 教授)

岡本 伸彦 (大阪府立母子保健総合医療センター 参事)

松本 直通 (横浜市立大学大学院医学研究科 教授)

太田 亨 (北海道医療大学 助教授)

3. 研究内容及び成果

先天異常症を引き起こす遺伝子の同定はポジショナルクローニングなど様々な方法が用いられており、既に多くの遺伝子が同定されている。新川グループは非常に稀であるが染色体転座を伴う先天異常症例を用いて、本課題のもと、未知の先天性異常症の遺伝子の同定を試み、多大な成果をあげた。研究を進めるにあたって新川グループは国内外の先天異常症の患者からDNAサンプルを集める臨床細胞遺伝学研究グループとそれらのDNAの転座切断点から、遺伝子の単離・同定を行う分子遺伝学研究グループを組織し、以下に述べる数例の未知の先天的遺伝病の同定に成功した。

(1) Sotos 症候群(脳性巨人症)は成長過多、精神遅滞、特異顔貌、脳内奇形、痙攣などの症例を示す神経疾患である。染色体転座 t(5;8)(q35;q24.1)をもつ 1例の患者の転座切断点から原因遺伝子 *NSDI* を単離し、5q35 切断点付近のBACコンテグを構築し、切断点に跨がるクローンを単離した。同クローンの解析から、マウス *NsdI* 遺伝子のヒト部分配列を同定し、次いで全長鎖cDNAを含むcDNAライブラリーのスクリーニングで新規ヒト *NSDI* 遺伝子を単離した。*NSDI* の変異解析で、核型正常の日本人 Sotos 症候群患者中、52%に *NSDI* を含む 2.2Mb におよぶ欠失を、12%に *NSDI* 点変異を同定した。さらに、点変異はヘミ接合性の欠失あるいは蛋白切断型点変異であることから、*NSDI* のハプロ不全が Sotos 症候群の原因であると結論した。更に、欠失例の

大半が父性配偶子形成過程にその起源があること、欠失例と点変異例の解析から「遺伝子型・表現型相関」を認めたこと、欠失はその領域に存在する low copy repeats (LCR)が介在すること、2家系の親子例に点変異を認めることなどを明らかにした。これらの研究成果から、Sotos 症候群の確定診断法(特許申請中)を開発した。

(2) Marfan 症候群は、高身長、細長い体形、くも状指趾、易関節脱臼、脊柱側彎、水晶体脱臼、強度の近視・乱視、大動脈瘤・解離、大動脈弁・僧坊弁閉鎖不全などを特徴とする遺伝性の結合組織疾患である。本症は従来、*FBNI* 遺伝子が原因として知られていたが、*FBNI* 変異を欠く患者も多かった。複雑染色体異常と Marfan 症候群を合併する患者の 3p24.2 切断点の解析によって、TGF- $\beta$ 2 型受容体遺伝子 (*TGFBR2*) の断裂が明らかになった。従って、*FBNI* に変異のないフランス人の 10 家系および 10 名の日本人孤発例において変異解析を行った結果、4種の *TGFBR2* 変異を同定した。同定した変異はすべて機能喪失型であり、TGF- $\beta$  シグナル伝達系における抑制効果を示したので、Marfan 症候群の原因遺伝子であると結論した。*TGFBR2* 変異によって、細胞外マトリクスに関わる TGF- $\beta$  シグナル伝達の機能低下が発症の原因と思われ、2種類の TGF- $\beta$  シグナル伝達経路の存在を強く示唆した。これらの研究により、Marfan 症候群は *FBNI* と *TGFBR2* の2つの遺伝子の変異によって起こることが判明した。確定診断法は現在、特許申請中である。

(3) ヒト耳垢型は湿型と乾型に二分され、乾型は日本を含めた東アジア人特有(80%~95%)であり、その他の多くの民族は湿型が主体である。湿型は腋窩腺体臭とリンクし、乳がんの発生に関連すると考えられている。新川グループは過去の研究でマップした連鎖領域ポジショナルクローニング法によって耳垢型決定遺伝子の単離に成功した。その結果、126 名中1名を除く全員の耳垢型は、*ABCC11* 遺伝子中の cSNP [c.538G>A (Gly180Arg)] が決定していることを明らかにし、乾型は AA ホモ接合体、湿型は GG ホモ接合体または GA ヘテロ接合体であることが判明した。更に、LLC-PK1 細胞を用いた発現・機能解析の結果により、乾型蛋白(MRP8-Arg)は、野生型(MRP8-Gly)に比べて、細胞内→外への基質排出能が低下していることが結論づけられた。又、世界中の30の民族におけるAアレル(乾型)の遺伝子頻度を調べ、東北アジアにピークをもつ南北および東西地理的勾配が明らかとなった。新川グループは本研究で得られた耳垢型決定多型は、耳垢型のみならず古代モンゴロイドの移動・拡散を示し、さらにアジア人に少ない乳癌や、アジア人の薬剤耐性(副作用)を決定している可能性が高いという興味深い示唆も得ている。

新川グループが本課題で扱った疾患である先天性形態異常の原因遺伝子は、ヒトの初期発生に関わるものである。したがって、新規遺伝子や既知遺伝子の新しい機能の発見は、診断などに貢献するのみならず、遺伝子機能を利用した細胞生物学的発見や薬剤などの開発につながる可能性もあることを付記したい。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

新川グループの研究成果についての事後評価は、極めて高いものであった。評価者6人の大部分が新川グループの研究成果について非常に優れた研究成果を得られたとしている。その理由は染色体転座を手掛かりとして組織的にいくつかの先天異常症の遺伝子の同定に成功したことである。新川グループの同定した、先天異常症は確かに、極めて稀なものが多いが、染色体転座切断点を手掛かりとする、その徹底した方法論は新川教授の前にも成功例があるとはいえ、比較的短時間で Sotos 症候群・Marfan 症候群・耳垢型などの遺伝子を同定したことは高く評価される。このように新川グループの研究による先天異常症の遺伝子同定によって我が国が世界的にこの分野での貢献が評価されるようになった。この、本 CREST がサポートした研究のうちでも成功例のひとつにあげられて良いと思う。

##### 4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

新川グループの最大の貢献は上にも述べたように我が国における先天的異常症などの遺伝子の同定に関する研究レベルを飛躍的にあげたのみならず、今後、ますます重要になるより多因子性疾患の遺伝子同定においても大きな刺激を与えた。新川グループの方法論が多因子疾患の遺伝子同定にすぐには応用できないにしろ、遺伝子同定に関し、多くの情報を提供したことは疑いない。また、今後、新川グループの同定した先天異常症遺伝子の情報をもとに、これらの異常症をひきおこす原因、特にその分子メカニズムの解明に重要な情報と手掛かりを与えたことはいまでも無い。新川グループのこれらの研究の報告は、そのほとんどが Nature Genetics、Lancet など、一流誌に投稿されていることも付け加えておきたい。

##### 4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

松本直通:2003 年度日本人類遺伝学会奨励賞

「Sotos 症候群の原因遺伝子のポジショナルクローニングと遺伝子欠失機構の解明」