

## 種々の遺伝性疾患と染色体構造異常およびゲノム変化に関する研究

新川詔夫, 吉浦孝一郎, 三輪晋智, Remco Visser, De-Sheng Liang, Ling-Qiang Wu, Christophe K. Mapendano, 野村昌代, 石崎庸子, 菊池妙子, 中島光子, 佐藤大介, 三浦生子, 霜川 修, 国場英雄, 津田雅由, 足立康久, 木住野達也, 近藤新二, 湯浅千春, 荒木智徳, Hang-Xiang Deng, 松本直通, 水口 剛, 太田 亨, 成富研二, 要 匡, 塚元和弘, 添田栄一, 高橋規郎, 渡辺 章, 市川英三郎, Nadiya Sosonkina, Dmytro Starenki, Gabit K. Alipov, 関根一郎, Vladimir A. Saenko, Tatiana Rogounovitch, Vasili Roudenok, Pavel Bepalchuk

電離放射線は高率に染色体（ゲノム）切断・再結合を起こす。一方、非常に稀だが先天性の均衡型染色体転座と単因子病を合併する症例があることから、放射線被爆による疾患発症のモデルとなる。本研究で、ゲノム異常を伴うソトス症候群（脳性巨人症）の分子病理、染色体構造異常を伴う2型糖尿病やマルファン症候群2型、歌舞伎症候群などの原因・候補遺伝子の単離・同定・分子病理、さらに、位置的単離による耳垢型（乳がん関連）遺伝子の同定と機能解析、ゲノム病を効率よく同定する4.2K BACマイクロアレイの構築を行った。一方、デュピトラン拘縮症の原因遺伝子の候補を同定し、その確定研究が進行中である。

### 成 果

#### 1. 染色体構造異常を伴う単一遺伝子病の解析

非常に稀だが染色体構造異常と単因子病を合併する症例がある。本研究は、このような症例を国内外から組織的に集積し、染色体転座切断点から多くの疾病遺伝子の単離・同定を行ったものである。

##### (1) ソトス症候群の分子病理

ソトス症候群は常染色体優性の先天性神経疾患である。原因は未知であり、診断は臨床症状からのみ可能であった。原因遺伝子 *NSD1* は、2002年に本研究室の黒滝らが染色体転座をもつ患者から単離した。国内外から集積した112例における変異解析の結果、15例に点変異、50例に *NSD1* 全長を含むゲノム微細欠失を認め、本症の主原因が *NSD1* 遺伝子のハプロ不全であると結論した。次いで、多くの欠失の切断点が一致していた事実から本研究室の Visser らが切断点解析を行い、共通欠失の近位及び遠位断端領域に約 400-Kb 大の相同性の高い領域 (LCR) の存在を明らかにし、種々のゲノム解析により LCR の一部は欠失のホットスポットだと判明した (図1)。

##### (2) マルファン症候群2型の原因遺伝子 *TGFBR2* 単離とその機能解析

症候群は常染色体優性の先天性結合織疾患である。2004年、本研究室の水口らは、複雑転座をもつ患者から遺伝子 *TGFBR2* を単離し、次いで本邦とフランス人家系の多くの患者における解析で変異を同定し、さらにミスセンス変異の TGF- シグナル伝達系における機能的解析の結果から、*TGFBR2* が原因遺伝子だと確定した。今後は *FBNI* を中心とする細胞外マトリックス構造と TGF- シグナル系のネットワークの観点から、病態の解明が行われことで治療に向けた展開が期待される。

- (3) 2型糖尿病を伴う転座切断点からの *KIAA0263* 同定  
2型糖尿病の母由来の転座をもち、若年発症で肥満を伴う2型糖尿病同胞例の3p14.2切断点から、転座により断裂した *KIAA0263* 遺伝子を同定した。2型糖尿病は多因子疾患ではあるが、その感受性遺伝子の多くはま

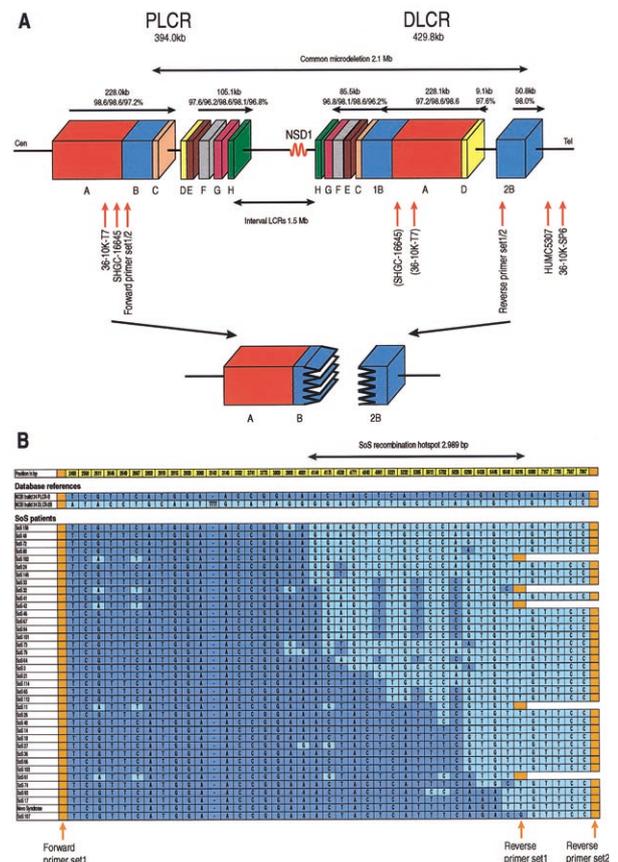


図1. ソトス患者にみられた欠失領域両端に存在するLCR (A) と組換えホットスポット (B)

だ不明である。切断点解析から同定した *KIAA0263* はその候補遺伝子の1つであり、大規模な2型糖尿病患者集団における関連研究が待たれる。

#### (4) 無鼻症における転座切断点解析

本症を伴う転座をもつ台湾人症例の3q11.2切断点の解析を行い、19-Mbの欠失を確認した。核型正常の4例において、FISH解析および2.2K全ゲノムアレイ解析を行ったが、欠失は認めなかった。欠失範囲内には候補となる数種の遺伝子が存在するので、現在それらの変異解析を続行中である。

#### (5) 転座を合併した歌舞伎症候群患者の解析

多発性外骨種と典型的な歌舞伎症候群をもち、新生均衡転座を合併する患者の転座切断点解析を行った結果、8番と18番染色体上に7箇所の切断点をもつ複雑異常であった。欠失領域内には計24個の既知遺伝子が存在するので、今後、それらの変異解析を行い歌舞伎症候群の責任遺伝子の同定を目指している。

#### (6) 染色体腕内逆位を合併した先天性爪欠損症例の解析

常染色体優性の先天性全爪欠損症家系の連鎖解析により17p12領域に爪低形成座がマップされているが原因遺伝子は不明である。特異顔貌、爪低形成、17番染色体腕内逆位をもつ患者の逆位切断点を解析した。近位切断点領域はケラチン遺伝子クラスターの一部を含み、遠位切断点は *BCAS3* 遺伝子の一部と *TBX4* 遺伝子の一部を含むことが判明した。患者の爪形成不全は、逆位によりケラチン関連遺伝子の1つが断裂されたことが原因だと考えられる。

## 2. 耳垢型(多剤耐性)遺伝子 *ABCC11* の同定と機能解析

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データがある。本研究は、連鎖領域から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 *ABCC11* を単離したものである。*ABCC11* は多剤耐性遺伝子である。発現・機能解析の結果、乾型蛋白は、野生型蛋白に比べて、細胞内外への基質排出能が低下していた。次いで、中央アジア・東欧諸国を含む世界中の30以上の民族におけるAアレル(乾型)の遺伝子頻度を調べた結果、東北アジアにピークをもつ南北

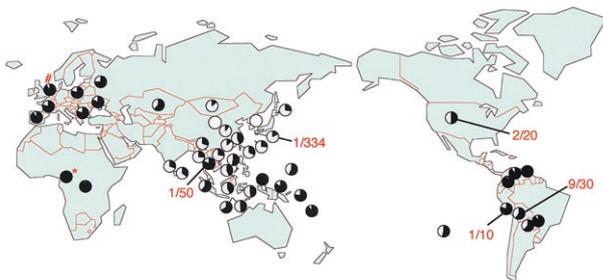


図2. 世界の民族における *ABCC11*-A アレル頻度 (○の白抜き比率) とGアレル上の27塩基欠失の頻度 (赤数字)

よび東西地理的勾配が明らかとなった(図2)。*ABCC11* は初乳量や薬剤耐性、さらに腋窩臭に関連する遺伝子であり、オーダーメイド医療に貢献できると期待される。また、*ABCC11* は産婦の初乳量や、腋窩臭とも関連していることが明らかとなった。さらに本研究で得た耳垢型決定多型は古代モンゴロイドや弥生人の移動・拡散を示すものである。

## 3. アレイCGHの開発・作製と疾患ゲノム解析

ゲノム上の微細欠失による種々の疾病が知られるようになりゲノム病と総称される。従来原因不明の先天異常症のいくつかはゲノム欠失(1コピーの遺伝子)あるいは重複(3コピー)による可能性がある。このような背景から、微細なゲノムのコピー数の異常(欠失や重複)を高感度・高精度、且つ網羅的に同定するためのマイクロアレイ系の開発を行った。そのうち、テロメア領域に高頻度に起こる染色体再構成を検出するテロメア特異的CGHマイクロアレイ、および性染色体マイクロアレイの開発に成功した。また、5000以上のクローンのFISH解析を行い、多発シグナルのないクローン4235個を選択し、増幅・精製後インクジェット方式でスポットを行い4.2Kアレイが完成した。同アレイを種々の疾患解析に応用した結果、特発性精神遅滞例の8例に微細な病的染色体異常を同定し、数種の新規疾患を確立した。

## 4. デュプイトラン拘縮症原因遺伝子の探索

デュプイトラン拘縮症は、通常、中年以降に、手掌腱膜や足底腱膜の縦走線維とその延長である指掌・足底深筋膜の線維化をきたす疾患である。本症は北欧に多く、従来日本人には稀とされてきたが、最近では日本でも症例発表は多い。ベラルーシ共和国でも多発していることから、放射能汚染地域との関連も含めて、ベラルーシ医科大学整形外科との共同で本研究を開始した。ミンスク市在住の患者50名と正常対照者50名を集積し、ゲノムDNAを試料とした。HapMapプロジェクトの成果を参照して、16番染色体上の候補領域にあるSNPと疾患の関連解析を行った。その結果、*p*値が0.01以下を示す5つのSNPを得た。このうち、2つのSNPは遺伝子A(未発表のため遺伝子名は割愛)中に同定した。遺伝子Aはアポトーシス関連機能をもつマウスA遺伝子のヒトホモログであり、遺伝子変異をもつマウスのヘテロ接合体は前肢の部分合指を示すものである。したがって、遺伝子Aはデュプイトラン拘縮症原因遺伝子の候補である。

## 5. 人材育成

研究期間中、多くの海外研究者(オランダ、台湾、中国、ベラルーシ、米国、モンゴル、コンゴ民主共和国)と国内研究者が来訪、長期間あるいは短期間滞在し共同研究を行った。また多数の博士過程学生の育成に当たり、染色体構造異常およびゲノム変化に関する研究の世界的拠点の1つとなっている。