

日本人に高頻度にみられる遺伝性皮膚疾患の原因と医薬品の候補を特定 ～難病のオーダーメイド医療へつなげる～

【ポイント】

- ・日本人に高頻度にみられ、日光露光部に皮膚がんを好発する遺伝性難病である、色素性乾皮症 (XP) の新たな原因を同定しました。
- ・XP 患者の治療に有効であると期待される医薬品の候補を新たに得ました。
- ・種々の遺伝性疾患の原因となる遺伝子配列の異常を特定して、医薬品候補を導出する技術を開発しました。



【研究概要】

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学環境医学研究所（所長：益谷央豪教授）の千住千佳子大学院生、中沢由華講師、尾曾太一大学院生、荻朋男教授を中心とする研究グループは、神戸大学（錦織千佳子 特命教授）、大阪医科薬科大学（森脇真一 教授）、熊本大学、長崎大学との共同研究により、日本人に高頻度にみられる遺伝性皮膚疾患である、色素性乾皮症（XP）の原因となる遺伝子の異常と、この遺伝子異常を有する患者（日本国内におよそ 500 人ほど）の治療に有効であることが期待される医薬品の候補を新たに同定しました。

今日、様々な遺伝性疾患の原因を特定するために、NGS（次世代配列解析技術）*¹が利用されていますが、病気の原因が特定できない症例も多数残されています。本研究では、一般的に普及している遺伝子解析法（エキソーム解析）では同定できない疾患原因を特定し、同時に治療標的と医薬品の候補を導出する新たな手法を開発しました。本研究の成果は、色素性乾皮症に限らず全ての遺伝性疾患に応用可能であり、条件が適合する場合には、世界にたった 1 人しかいない超希少な疾患であっても医薬品を開発することが可能になります。将来、希少疾患のオーダーメイド医療への発展が期待されます。

本研究成果は、2023 年 6 月 26 日付（日本時間 6 月 27 日午前 4 時）米国科学アカデミー紀要『The Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)』に掲載されました。

【研究背景と内容】

色素性乾皮症（xeroderma pigmentosum: XP, 指定難病 159）は、日光過敏や皮膚がんを高頻度に発症する遺伝性の皮膚疾患で、病気の発症原因が不明で、有効な治療法がなく、患者数が少ない疾患（難病）に属しています。本邦では海外に比べるとおよそ 10 倍ほど多く XP の患者がみられ、有病率は 2 万 5 千人に 1 名程度と、遺伝性疾患の中では比較的頻度が高い病気です。

XP は、日光に含まれる紫外線によってできた DNA の傷を修復する生体防御システムが機能しなくなることで発症します。遺伝情報が格納されているゲノム DNA には、常に様々な損傷が生じていますが、生じた損傷の種類に対応した DNA 修復機構が適切に機能することで、損傷を取り除き、ゲノムを安定に維持しています。この DNA 修復機構に異常があると、生じた DNA 損傷を修復できず、遺伝情報の適切な利用や、遺伝情報の正確な伝達・維持ができなくなります。このような DNA 修復機構に異常を示す疾患を総称して「ゲノム不安定性疾患群」と呼び、XP もその一つです。

現在、NGS と呼ばれる技術を用いて、世界中で様々な遺伝子解析が行われています。NGS の中でも、遺伝性疾患の原因特定に最もよく用いられる技術が、「エキソーム解析」で、蛋白質を作るのに必要な遺伝情報が記録されている、ごく一部（全体のおよそ 1%）の DNA 配列情報を取得するというものです。しかし、この「エキソーム解析」では、疾患原因が特定できない症例が多数出てきたことから、近年では、全ての遺伝情報を取得する「全ゲノム解析」法も取り入れられるようになってきました。

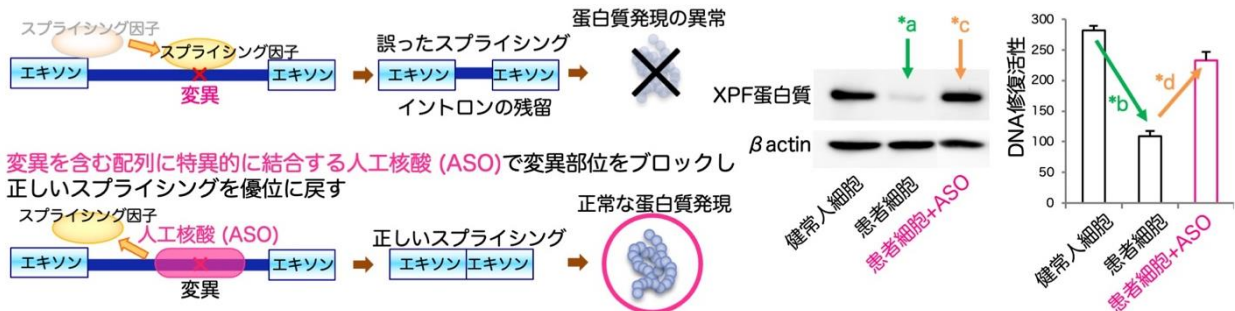
本研究グループは、臨床的に XP が疑われ「エキソーム解析」を実施したものの、疾患原因が不明であった日本人症例について、「全ゲノム解析」を活用し、その疾患原因となる遺伝子異常の特定に取り組みました。

【成果の意義】

本研究グループは、疾患原因が明らかにされていない日本人の XP 症例について、「全ゲノム解析」による遺伝子配列情報の取得をおこない、あわせて患者由来の細胞を用いた DNA 修復活性検査*²を実施しました。その結果、「エキソーム解析」では検出不可能な、XPF 遺伝子のイントロン*³領域の配列異常により、疾患を発症していることがわかりました。生体機能の維持に必要な蛋白質を作るためには、DNA に記録された遺伝情報を読み出して、メッセンジャーRNA（mRNA）に転写（コピー）し、その情報に基づいてアミノ酸を順番に連結させて蛋白質を合成（翻訳）します。mRNA を転写する過程では、蛋白質を作るのに必要な情報である「エキソン」領域のみを抜き出し、イントロン領域を取り除く「スプライシング」処理を行います。今回見つかった遺伝子の異常を持つ患者は、XPF 遺伝子のスプライシングが正常におこなわれないため、XPF 蛋白質が作られず、紫外線によってできた DNA の傷を取り除く、ヌクレオチド除去修復機構が機能しないため、XP を発症していることがわかりました（下記図参照）。

イントロン内部の遺伝子配列の異常により発症する日本人の色素性乾皮症 (XP)

スプライシング因子が *XPF* 遺伝子 mRNA 配列異常を誤認識するため、誤ったスプライシングが起きる。
 → XPF 蛋白質が正しく作られない**a* ため、DNA 修復活性が異常**b* になり、疾患 (XP) を発症する。



→ XPF 蛋白質が正しく作られるようになり**c*、DNA 修復活性が回復**d* する。→ この ASO は疾患治療薬となる可能性がある。

つぎに、患者の細胞内で正常なスプライシング反応を行えるようにすることで、XP の病状緩和や治療が可能になるのではないかと考えました。今回患者で確認された異常は、スプライシング反応を行う因子が、*XPF* 遺伝子 mRNA イントロン領域内の誤った配列に結合することで発生します。スプライシング因子が誤った配列に結合するのを阻害することで、正常な位置でスプライシング反応を起こすことが可能になります。そこで、mRNA に結合する短い核酸（アンチセンスオリゴヌクレオチド: ASO）*⁴ を利用することを検討しました。患者に特異的なイントロン内の mRNA 配列に ASO が結合することで、誤ったスプライシングが起きないようにできるのではないかと考えました。実験の結果、ASO を作用させた患者様由来細胞では、正しい位置でスプライシングが起き、XPF 蛋白質が作られるようになり、また、DNA 修復活性も回復することが確認されました。この結果は、ASO が今回の XP 症例の有効な治療薬の候補になることを示しています（図参照）。

疾患原因となる mRNA 上の異常配列を ASO によりブロックすることで、蛋白質発現と細胞機能 (DNA 修復活性など) を回復させる手法は、他の様々な疾患にも応用が可能です。全ゲノム解析では、疾患原因となる遺伝子の異常のほかにも、多くの配列上の差違が検出されるため、その中から本当の疾患原因を特定することが必要になりますが、実はこれはとても大変な作業です。特に今回のような、蛋白質に翻訳されないイントロン領域の異常は、それが本当に疾患の原因かどうかを判定することは非常に困難です。近年、AI を活用した解析技術を取り入れるなど様々な試みがなされていますが、イントロン領域の疾患原因の特定は、なかなか進んでいません。今回、本研究グループが実施した ASO による異常な mRNA 配列のブロック法は、真の疾患原因変異をブロックした場合にのみ蛋白質発現と細胞機能の回復が見られることから、この方法を用いると、疾患原因となる配列異常の特定 (ブロックした配列が疾患原因である) と、治療薬候補の選出 (ブロックに用いた ASO がそのまま医薬品の候補となる) が同時に実現可能となります。また本法は、XP に限らず全ての遺伝性疾患に応用が可能です。将来的には、様々な希少疾患のオーダーメイド医療への発展が期待される技術です。

本研究は、日本医療研究開発機構・難治性疾患実用化研究事業『ゲノム不安定性疾患群を中心とした希少難治性疾患の次世代マルチオミクス解析拠点構築 (2020 年度から・代表者荻朋男)』、日本医療研究開発機構・創薬基盤推進研究事業『ゲノム不安定性疾患に対するスプライシング異常を引き起

こす VUS の人工核酸を用いた網羅的検証と創薬ターゲットの導出（2020 年度から・代表者中沢由華）』、科学研究費助成事業・挑戦的研究（萌芽）『ゲノム不安定性疾患の新規疾患原因遺伝子変異同定法の確立と探索(2021 年度から・代表者中沢由華)』の支援のもとで行われたものです。

名古屋大学環境医学研究所 発生遺伝分野は、ゲノム不安定性疾患の遺伝学的検査をおこなう解析センターを運営しています。解析をご希望の方は、医療機関を通して、下記センターへお問い合わせください。（一般の方からの直接のご依頼は受け付けておりません。まずは担当医・医療機関へご相談ください。）

ゲノム不安定性疾患検査センター

<http://www.riem.nagoya-u.ac.jp/4/genetics/genomic.html>

【用語説明】

*1 NGS（次世代配列解析技術）

DNA 配列を網羅的に調べる方法。蛋白質を作るのに必要な遺伝情報が記録されている、ごく一部（全体のおよそ 1%）の DNA 配列情報を取得する全エキソーム解析や、全ての遺伝情報を取得する全ゲノム解析などがある。

*2 DNA 修復活性調査

様々ある DNA 修復機構のそれぞれの活性を調べる方法があるが、今回は、色素性乾皮症で異常になっているヌクレオチド除去修復機構の修復活性を特異的に調べる方法を用いた。

*3 イントロン

蛋白質を作るのに必要な情報が記録されている領域をエキソンと呼ぶのに対して、それ以外の領域をイントロンと呼ぶ。

*4 アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）

標的となる配列（DNA/RNA）と相補的な配列をもつ 1 本鎖の DNA や RNA のこと。標的となる配列（DNA/RNA）に特異的に結合する。

【論文情報】

雑誌名: The Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)

論文タイトル: Deep intronic founder mutations identified in the ERCC4/XPF gene are potential therapeutic targets for a high-frequency form of xeroderma pigmentosum

著者: Chikako Senju (大学院生・名古屋大学/長崎大学), Yuka Nakazawa (講師・名古屋大学), Taichi Oso (大学院生・名古屋大学), Mayuko Shimada (技術職員・名古屋大学), Kana Kato (技術職員・名古屋大学), Michiko Matsuse, Mariko Tsujimoto, Taro Masaki, Yasushi Miyazaki, Satoshi Fukushima, Satoshi Tateishi, Atsushi Utani, Hiroyuki Murota, Katsumi Tanaka, Norisato Mitsutake, Shinichi Moriwaki (大阪医科薬科大学・教授), Chikako Nishigori (特命教授・神戸大学), and Tomoo Ogi (教授・名古屋大学)

DOI: [10.1073/pnas.2217423120](https://doi.org/10.1073/pnas.2217423120)