

ヒトの分子遺伝学

第4版

HUMAN MOLECULAR GENETICS 4TH EDITION

TOM STRACHAN
ANDREW READ

監修

村松正實
木南 凌

監訳

村松正實
木南 凌
笹月健彦
辻 省次



メディカル・サイエンス・インターナショナル

基本概念

- ヒト DNA の配列多様体は、大規模なもの小規模なもの、ありふれたものとまれなもの、そして疾患を誘発しないものと疾患を引き起こすものとに分類することができる。
- 一塩基多型(SNP)は、最も数の多い配列多様体である。
- 短い縦列反復配列多型 (STRP, もしくはマイクロサテライト) はゲノム中に非常によくみられる。最も一般的な反復単位は 1, 2, 4 塩基長で、縦列反復の単位は通常、100 塩基対未満の長さである。各反復単位中の反復の数は、DNA 複製の際のポリメラーゼ反応の繰り返し数が異なるため、ヒト個体間でしばしば異なる。
- ミニサテライトは、より長い反復単位、通常 10 ~ 50 塩基対からなる縦列反復である。この場合も、各反復単位中の反復の数はヒト個体間でしばしば異なり、この差異は不等組換えにより生じることが多い。ミニサテライトは、染色体のテロメアに近くなるほど出現頻度が高まる。
- 多くのより長い配列 (1 kb と 1 Mb の間の) は、健常者の間でもコピー数のばらつきがある。全ゲノムの約 5% は、このようにして異なっている。そのような変化をきたす最大の理由は、誤って対を形成した反復配列の間の組換えである。
- ゲノム DNA は、絶え間ない損傷と修復にさらされている。ほとんどの損傷は効率的に修復されるため、気づかれないきますむ。損傷の修復や複製間違いの修復における失敗は、配列のほとんどの多様性の最終的な原因である。
- 最も頻度の高い配列多様体は病原性ではないが、他の配列多様体と組み合わせることにより多因子疾患への罹患しやすさ、あるいは罹患しにくさをもたらす可能性がある。それらは家系分析、法医学、およびヒト集団の起源と相互関係の研究において、マーカー(ある染色体やある個体を見分けるのに使用できる配列多様体)として役に立つ。
- ある遺伝子産物の機能の喪失もしくは獲得のいずれかが、疾患の原因となることがある。ある遺伝子の機能を喪失させる変化はきわめて多種類ありうるが、通常 1 つないし数か所の特異的变化だけが、機能の獲得を引き起こす可能性がある。
- 通常、機能を喪失させる変化は劣性表現型を、機能を獲得させる変化は優性表現型を導く。また、正常遺伝子産物が 50% 存在しても正常表現型を発生させるのに十分でない(ハプロ不全)か、または変異アレルのタンパク質産物が正常産物の機能を妨げる(優性ネガティブ効果)と、機能の喪失により優性表現型が生じる。
- 分子病理学は、ある遺伝的变化がなぜ特定の臨床表現型を引き起こすかを説明しようとする。しかし、個々人の遺伝的構成と環境が大きく異なるので、遺伝型と表現型に明確な相関をみることはまれである。

本章では、異なるヒト個体間に存在するゲノム DNA 配列の違いについて述べる(ヒトと他の種との違いは第10章で述べた)。すでに、数名の特定の人物について全ゲノム塩基配列が得られており、それらの配列が何百万もの箇所でも互いに異なっているのが明らかになっている。そうしたヒトゲノムの個人差の大部分は、まったく何の影響も及ぼさないようにみえる。しかし、なかには表現型に影響し、各個人を形作る体格や皮膚の色、代謝、気質などに正常範囲内の遺伝的多様性をもたらすものもある。これらは正常な配列多様体である。一方、病原性の配列多様体もあり、それらは病気を引き起こすか、あるいは疾患感受性をもたらす。感受性をもつ人は疾患に罹患しやすくなるが、実際に罹患するかどうかは、他の遺伝子や、生活習慣、環境、あるいは単純に運によって決まる。本章では、最初に正常な配列多様体について述べ、次に病原性のものについて述べる。さらに高いレベルの遺伝的多様性もあるが、本章では言及しない。それは個体間のエピジェネティック(後成的)な多様性(DNAメチル化とクロマチン構造の多様性)で、第11章ですでに扱った。しかし、個々の表現型がどの程度遺伝子に依存し、またどの程度エピジェネティックな違いに依存しているかに関する理解はまだ推測の域を出ない。

13.1 ヒトゲノム間にみられる多様性の種類

ヒトの遺伝的多様性は、一塩基の変化から全染色体の獲得あるいは喪失まで幅広い。ゲノムの配列多様体(variant)は、その規模によって分類すると便利である。その際、通常の数百塩基対のPCR産物の塩基配列決定によって検出できるかどうかを基準とする。小規模のものは通常、もし何か影響するとすれば、単一の遺伝子にしか影響を及ぼさない。一方、大規模なものは通常、複数あるいは多数の遺伝子に影響する。実際はもちろん、これらに境界はなくすべて連続的に存在している。

13.1.1 一塩基多型は数の上で最もありふれたタイプの遺伝的多様性である

個々人のゲノムを比較すると、大多数の塩基配列は個人間でほとんど同一である。だからこそ、ヒトゲノムに関して共通の用語で議論することが可能となるわけである。配列の違い(配列多様体)がときどき見られることがあるが、それらは常にまれな存在であるといっている。しかし、およそ300塩基に1個程度の頻度で見つかる

BOX 13.1 多型と変異：さまざまな意味をもつ用語

多型(polymorphism)という用語を人類遺伝学者が使用する際、時と場合によりさまざまな異なるものを意味する。いうまでもなく、これでは混乱を引き起こす可能性がある。

- 集団における頻度がある値(しばしば0.01が用いられる)を超えていれば、分子遺伝学者はその配列多様体(variant)を多型として記載することが多い。例えば、8q24におけるSNP rs1447295(記載法の説明に関してはBOX 13.2参照)は、ヨーロッパのHapMap集団における頻度がそれぞれ0.93と0.07であるCとAの2種類のアレルをもつ多型である。特に指定されない限り、これが本書で使用する意味である。任意の閾値以下の頻度で現れる配列多様体を、まれな配列多様体として記述することがある。
- 集団遺伝学者は、より頻度の低い配列多様体は単純な変異の繰り返しでは維持できないことから、多型を「複数の遺伝型の集団における安定な共存」と定義する。この定義を用いれば、いくつかの病原性変異は多型とみなされる。例えば、北ヨーロッパ集団において

胞性線維症を引き起こす最も一般的な変異(p.F508delと命名。記載法の説明に関してはBOX 13.2参照)は、北ヨーロッパ集団において0.01~0.02の頻度をもつ。第3章に示したように、嚢胞性線維症患者の受ける選択圧を考慮すると、変異の繰り返しによってこの頻度が維持されるのは難しいと考えられる。

- 臨床遺伝学者は、その頻度にかかわらず非病原性の配列多様体を意味するのにしばしば多型という語を使用する。病原性の配列多様体は、一般的であれまれであれ、変異として記載される。
- 変異(mutation)という用語も、過程あるいは結果のいずれかに関して2つの異なる意味で使用される。
- DNA配列を変える出来事：用例「UV照射はDNAに変異を発生させた」
 - ずっと以前に起こったであろうDNA配列変化：用例「女性は父親から変異を受け継いだ」

BOX 13.2 DNA とアミノ酸の多様性を記載するための術語群

公的データベース dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>) に登録されている一塩基多型 (SNP) は、rs212570 のような個別の識別子で参照される。rs は参照 SNP (reference SNP) を表し、212570 は個別の通し番号である。短い縦列反復配列多型 (STRP) は、D6S282 といった識別子をもつ、D は DNA を表し、6 はその多様体が位置する染色体番号、S は単一コピー配列を意味し、そして 282 は個別の通し番号である。

Human Genome Variation Society (ヒトゲノム多様性協会) のウェブサイト <http://www.hgvs.org/mutnomen/> に公表されている規約を使用することで、どんな配列変化についても記述できる。一般的な例を下記に説明する。

すべての多様体を、g. (ゲノム)、c. (cDNA)、r. (RNA)、p. (タンパク質) を前に置いて区別する。

塩基(ヌクレオチド)置換

ある遺伝子における変化に関して、開始 ATG コドンの A は +1 と番号づけされる。この A の直前の塩基は -1 である。ゼロの位置はない。変化したヌクレオチドの番号に続けて、変化そのものを記述する。

- g.1162G > A : ゲノム DNA で、1162 位のグアニンからアデニンへの置換。

イントロン内の変化では、cDNA 全配列だけが既知の場合、IVS (IVS は intervening sequence [介在配列] を表す) あるいは最も近いエキソンの位置番号に従ってイントロン番号を指定する。

- g.621+1G > T あるいは IVS4+1G > T : イントロン 4 の 1 番目の塩基部位 (ヌクレオチド 621 がエキソン 4 の最終塩基) で G から T

への置換。

アミノ酸置換

1 文字コード (X は終止コドンを意味) あるいは 3 文字コードを使用する。タンパク質は開始メチオニンをコドン 1 として番号づけされる。

- p.R117H あるいは p.Arg117His : アルギニン 117 のヒスチジンへの置換。
- p.G542X あるいは p.Gly542Stop : グリシン 542 のコドンが終止コドンに置換。

欠失と挿入

ヌクレオチド部位、(DNA 変化には) 間隔、あるいはアミノ酸コード文字 (1 文字コード、アミノ酸変化に対して) に引き続いて、欠失には "del" を挿入には "ins" を使用。

- p.F508del : タンパク質 (p) でフェニルアラニン (F) 508 の欠失。
- c.6232_6236del あるいは c.6232_6236delATAAG : cDNA の 6232 位から始まる 5 ヌクレオチドの欠失。欠失したヌクレオチドの配列を表示できる。
- g.409_410insC : ゲノム DNA のヌクレオチド 409 と 410 の間に C の挿入。

Mutalyzer というプログラムが開発されており、使用者が入力するどんな配列変化でも正確に名前を記述してくれる。<http://www.lovd.nl/mutalyzer/> 参照。

配列多様体があり、それは多型 (polymorphism) を示す。多型とは集団中に一般的にみられる型が複数存在することである (BOX 13.1)。これらは一塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP [複数形 SNPs で「スニップス」と発音する]) といい、公的データベース dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>) で系統的に命名され、rs (参照 SNP : BOX 13.2) で始まる番号がつけられている。

多くの場合、1 つの SNP は 2 つの選択型 (アレル) をもつ。例えば、ある位置が A か G かといった具合である (図 13.1A)。少数派の、よりまれなほうのアレルの頻度は、0.5 より小さい数になる。多数派の SNP アレルが表現型になんらかの大きな影響を与えるとは考えにくい。なぜなら自然選択によって、有害な配列であれば排除されるし、有益な配列であれば固定 (全個体に存在) されるはずだからである。ただし、現時点ではそのアレルの進化的過程が完了しておらず、進行中の段階にあるかもしれない。また、1 個のアレルがホモ接合となったときにはじめて有害となる場合には、安定した多型を作り出すことができ、この機構をヘテロ接合優勢 (heterozygote advantage) という。これは、劣性遺伝する有害な病態の無症候性保因者が、正常なホモ接合体よりなんらかの選択的優位性があるときに起こり、鎌状赤血球貧血がその例である (第 3 章, p. 73 参照)。自然選択に基づいた議論はまれな SNP についてはそれほど有用ではないが、ほとんどの SNP がタンパク質非コード領域や調節塩基配列外に位置しているという理由だけでは、まれな SNP が高頻度の SNP と同じく一般的に表現型に影響をもつとは予想できない。

多型部位のなかには、より複雑な多様性を作り出すものもある。ある SNP が 3 つのアレル、例えば A、G、C をもつこともあるし、また 2 つの SNP が互いに隣接することもある。dbSNP データベースにみられる複雑な配列多様体のかなりの部分 (1200 万のエントリーのうち約 200 万) は、欠失/挿入多型 (deletion/insertion polymorphism : DIP あるいは indel) である。典型的には、1 塩基もしくは 2 塩基の非反

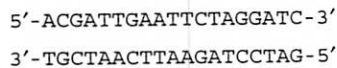
(A)
GCCTGTTTTATATTAC/TGATCCAATTTTTTCA
(B)
GAGACAGAGTTTCGC (T) TCTTGTGGCCAGGCT
(C)
CCAAGCCTGGAGCTA/GGCCGTGGCCAGGCAAG

図 13.1 一塩基多型 (SNP) の諸型

(A) 単純な SNP。rs212570 は 20 番染色体上の C/T 多型である。(B) 欠失/挿入多型。rs36126 541 は 12 番染色体上の配列における単一 T ヌクレオチドの挿入あるいは欠失である。(C) 制限断片長多型 (RFLP)。SNP rs36078338 は、制限酵素 NheI の認識配列 GCTAGC を作り出すかあるいは消滅させる。

復配列が挿入されるか欠失する(図13.1B)。反復単位の挿入や欠失では原因および動態が異なり、下記の短い縦列反復配列の項(p.473)で詳述する。

SNPがいくつかの制限酵素部位の一部をなす塩基配列に影響することもある。何百もの制限酵素が知られているが、その大部分はGAATTCなどの回文配列(palindromic sequence)を認識する。以下の配列は、相補鎖を5'から3'方向に読めば同じくGAATTCと読めるので、回文である。



とはいえ、そのような回文配列は全塩基中の約10%にしか相当しないので、ほとんどのSNPは制限酵素部位に影響しない。あるSNPがたまたま制限酵素部位内に存在するときには、1個のアレルしか必要な認識配列をもたない。したがって、多型は制限酵素部位を作り出すか、破壊するかのどちらかになる。この種のSNP(図13.1C)は、制限断片長多型(restriction fragment length polymorphism: RFLP)あるいは制限部位多型(restriction site polymorphism: RSP)と呼ばれ、DNAマーカーとして最初に広く使用されたもので、ヒトゲノムの最初の遺伝子連鎖地図を作成するのに使用された(第8章を参照)。

なぜ周囲のヌクレオチドはごくまれにしか多様性を作り出さないのに、ある特定のヌクレオチドは多型を示すのだろうか。一般的にいえば、そのヌクレオチドに付随する何かによって特に変異しやすいわけではない。むしろ、その多型は、現在の集団では一般的となった先祖の染色体部分に由来する。短い縦列反復配列との比較では、SNPは進化の過程を通して安定している存在である。1つの人種や民族に特異的なSNPはほとんど存在せず、アレル頻度が人種や民族間で異なるのであろう。それらのSNPはヒト進化の最初期からほとんど変わらずに存在する。こうしたSNPの状態をもとに祖先の染色体断片を定義できることは、遺伝子研究で非常に重要であり、第15章の主要検討事項になる。

13.1.2 散在および縦列反復配列のいずれもが多型を示しうる

第9章で述べたように、ヒトゲノムの約50%が反復配列からなる。大部分は散在する反復、すなわち、どこかに集合しているのではなくゲノムの全域あるいは一部の領域にわたって散在する反復配列である。ヒトゲノムに散在する反復配列のほとんどはトランスポゾン(細胞内感染のように、ゲノム内で広まることができる跳躍遺伝子。第9章参照)由来である。トランスポゾン由来反復配列のいくつかのファミリーが巨大な数で存在する。100~300bpからなるおよそ150万コピーのSINE(短い分散型核内反復配列)と、6~8kbからなる85万のLINE(長い分散型核内反復配列)がゲノム全域に点在している。特定の挿入配列にはヒトゲノムで多型を示すものもあり、同じ染色体のもう一方の相同染色体ではみられないこともある。

縦列反復配列も一般的である。反復単位は単一ヌクレオチド(例えば、Aヌクレオチドの連続)から100ヌクレオチド以上までありうる。長い単位の反復はサテラ

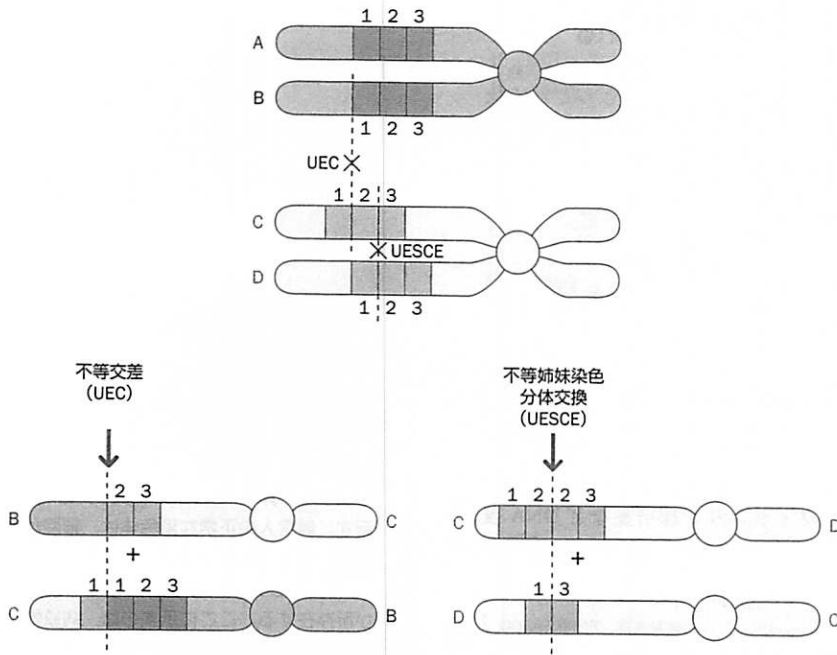
(A)
ACAGAGATAGACACACACACACACACACACACACACACACACAAACAAGCATGCTC

(B)
ATCAATGGATGCATACGT (AGAT)₁₅GAGAGGGGATTTATTAGAGGAATTAGC

(C)
TGAATTGCCT (TCTA)₄ (TCTG)₆ (TCTA)₃ TA (TCTA)₃ TCA (TCTA)₁₀ TCGTCTATC

図13.2 マイクロサテライト

(A) D6S282は6番染色体上の(CA)_n反復である。(B) D12S391は12番染色体上の4ヌクレオチド反復、(AGAT)_nである。(C) D21S11は21番染色体上の複雑な4ヌクレオチド反復。下線をつけた配列の反復数は可変で、図は典型的なアレルの例を示している。



イト (satellite) と呼ばれる。この名前は、全ゲノム DNA を超速心分離機で密度勾配沈降にかけていた初期の研究に由来する。反復配列をもつ DNA は、DNA 全体とは異なる浮遊密度をもって、小さい分離されたサテライトを形成した。有名な例は染色体セントロメアで見つけられた α サテライト DNA で、171 bp 単位の縦列反復配列からなる。約 10 ~ 50 塩基の単位をもつ反復はミニサテライト (minisatellite) と呼ばれ、さらに短い単位のものにはマイクロサテライト (microsatellite) である。ほとんどのマイクロサテライトは、1, 2, または 4 塩基の反復単位をもつ (図 13.2)。

短い縦列反復配列多型：家系分析と法医学研究のツール

異なる個体のゲノムを比較すると、多くの縦列反復配列の反復単位数に差異があることがわかる。SNP 多型と異なり、縦列反復配列多型は比較的最近に起きた出来事により生じた。2つのタイプがある。

- 減数分裂時に反復配列間で対形成を誤った組換えが、反復単位数の階段状変化を発生させる (図 13.3)。これは、ミニサテライトの多様性を生み出す主要機構であると考えられる。
- DNA 複製の際のポリメラーゼ反応のつまづきにより、1 もしくは 2 反復単位で反復配列の長さが変わる可能性がある。これは、マイクロサテライトの多型を生み出す主要機構である (図 13.4)。

多型を示すマイクロサテライト (短い縦列反復配列多型 [short tandem repeat polymorphism: STRP]) は、1990 年代前半以降、家系分析および法医学研究の分野で遺伝的マーカーとして選択されてきた。これは個人識別や、家系図を通して特定の染色体領域を追跡するには SNP より有用である。というのもヒト集団に多くのアレルが存在する可能性がある (例えば、1つのマイクロサテライトが、個々人で 5 ~ 20 反復単位のどれかになりうる) からである。ヒトゲノムプロジェクトの初期には、ヒトゲノム全域にわたる高解像度マーカーのフレームワーク地図を構築するために、十分な数の STRP (約 15 万の STRP が特定された) の同定およびマッピングに多大な努力が払われた。STRP はまだ法医学研究手段の選択肢として残っているが、マイクロアレイを使用すれば大規模に遺伝子の型判定ができるため、連鎖研究は SNP を使用する方向に進んでいる。

図 13.3 不等交差と不等姉妹染色体交換は挿入か欠失を引き起こす

図は、一連の縦列反復配列において、不適切に配置された反復配列間で組換えが起こった場合の結果を示す。不適切に配置された染色体が相同染色体上に存在すれば、結果として不等交差 (UEC) となる。また姉妹染色体間にあることもあり、その場合、不等姉妹染色体交換 (UESCE) を起こす。どちらの場合でも、結果として 2 種類の染色体ができる。1つ以上の余分な反復単位をもつ染色体と、対応する反復単位をもたない染色体である。簡単にするため、切断点が反復単位の間に位置するように示してあるが、それらは反復単位の内部に生じる可能性も等しくある。

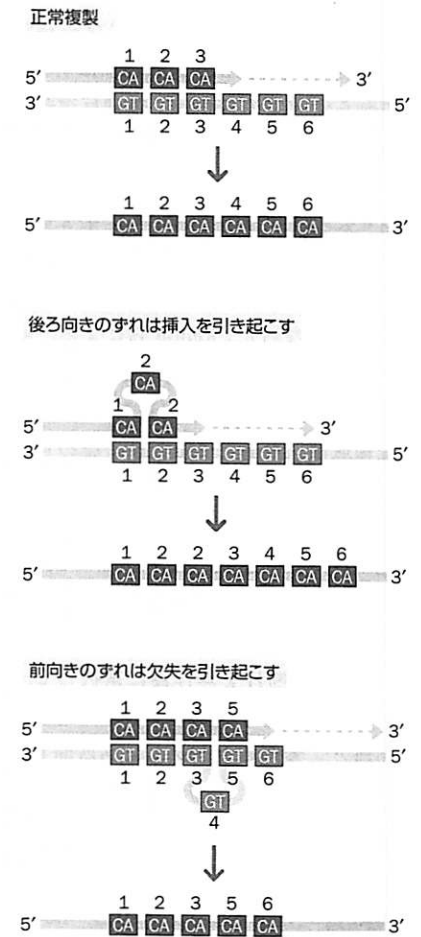


図 13.4 DNA 複製のずれによる鎖の誤対合
青い鎖を鋳型として使用して、新しい DNA 鎖 (薄紫色) が合成されている。正常な DNA 複製の間、初期の合成鎖は鋳型からしばしば一部解離してから、再び結合する。縦列反復配列があるとき、初期の合成鎖が再び結合する際に鋳型との対合を誤ることがある。これは結果として、鋳型鎖より少数かあるいは多くの反復単位をもつ新たな合成鎖をもたらす。

13.1.3 大規模なコピー数多様性はヒトゲノムでは驚くほど頻繁にみられる

細胞遺伝学者が顕微鏡で観察できるほど大きなゲノムの変化は、ほとんど常に散発性で病原性の異常事象の結果で、健常者にみられる多様性の一部ではない。細胞遺伝学的にみて、比較的一般的な正常な多様性には3種類しかない。

- 1番, 9番, 16番染色体のセントロメアとY染色体長腕のヘテロクロマチン領域の大きさは変動する可能性がある。
- 末端セントロメア型染色体(一端の近くにセントロメアをもっている13番, 14番, 15番, 21番, および22番染色体。図2.15参照)の短腕は、大きさと形態がかなり異なる。しばしば最末端部分が、短く細い茎状構造で染色体の本体に接続した、衛星(サテライト)のように見える。この場合のサテライトという用語は、DNA縦列反復配列のサテライトとは関係ないことに注意。
- さまざまな脆弱部位 (fragile site: ほどけたクロマチン領域) は、例えば、チミン枯渇培養やDNAポリメラーゼ阻害剤アフィジコリン加培養などDNA複製が困難な条件で細胞を培養するときに見られる可能性がある(図13.5)。ほとんどの脆弱部位は正常な多様性であるが、以下(p. 492参照)で議論するFRAXAとFRAXE脆弱部位は病原性である。

これらすべての変化は、縦列反復配列のコピー数の多様性を示す。最近まで、非反復性DNAの長い配列は、欠失でも挿入でもどれも病原性であると思われていた。アレイ比較ゲノムハイブリダイゼーション(試料と対照DNAが競合してマイクロアレイにハイブリダイズする。第2章参照)や全ゲノムSNPアレイなどの技術の到来で初めて、全ゲノム中の過剰あるいは欠損部位を検索するのが比較的容易になった。また、ふつうの健常人のゲノムに多くの大規模な変化をみいだせることが急速に明らかになった。Redonらによる、4つの地理的に異なった集団からの269人の健常者を対象とする大規模研究により(HapMap検体。第15章参照)、多様なコピー数をもつ少なくとも1 kb長の配列からなる1447領域がみいだされた。これらの可変領域は、合計で360 Mbすなわちゲノム全体の12%(その見積りは以降下方修正されているが)に及ぶと報告され、しかも多くの既知遺伝子を含んでいた。可変領域の平均長は250 kbであった。使用された技術は、これより短い数千塩基長の変化には比較的感度が低かったため、そのような短い配列多様体断片の多くは見逃されてしまったであろう。これらの短い配列多様体はペアエンドマッピング(paired-end mapping)の技術を使用することで特定できる。本法は、サイズ既知のゲノムDNA断片を無作為に選択して、断片の両端から数十塩基長の配列を明らかにする作業を伴う。こうすれば、選択された(既知長の)断片での両末端配列を隔てる距離と、参照ヒトゲノムにある同じ配列を隔てる距離とを比較することができる(図13.6)。もし、選択された断片でその距離が参照ゲノムより長いなら、その断片は参照ゲノムには存在しない挿入配列を含むはずである。逆に、より短い距離は配列欠失を示す。最近の研究により、これらの短い多様体が長い多様体よりさらに頻繁に存在することが示された(図13.7)。

SNPは数こそ多いが、2つのゲノム間で異なるヌクレオチドの数により多く貢献しているのは、コピー数多様性のほうである。したがって、ヒトゲノムはふつうの健常人間で、以前想定されていたよりもかなり多様である。前述の研究は、コピー数が増えているとき、その配列の複数のコピーがいくつかの染色体領域に散在しているのか、それとも縦列にクラスターを形成しているのかは明らかにしなかった。他の研究は、最も一般的にはそれらの配列が縦列にクラスターを形成していることを示している。Database of Genomic Variants(ゲノム配列多様体データベース: TCAG, <http://projects.tcag.ca/variation/>)は、一見健常人々でみられた配列多様体



図13.5 染色体脆弱部位

クロマチンの凝縮が比較的弱い染色体の一部と、それ以外は非常に凝縮した分裂中期の染色体を示す。健常人の正常な染色体は、細胞が特別な条件のもとで培養されると脆弱部位を示す傾向をもち、そうした部位はヒトゲノムに約120か所存在する。ここに示すのは、病原性脆弱部位FRAXA(灰色矢印)をもつX染色体である。[Graham Fews (University of Birmingham)の厚意による]

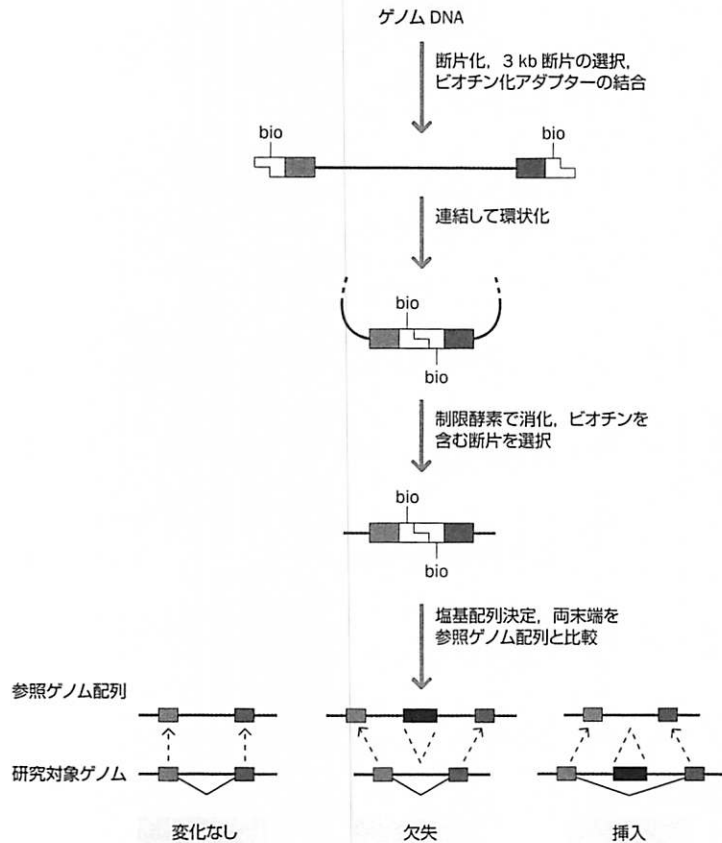


図 13.6 ペアエンドマッピングの原理

ペアエンドマッピングでは、BAC あるいは PAC クローンの切断ゲノム DNA 断片を大きさを調整したものに、ビオチン化アダプターを結合させて標識しておく。どちらの場合も、環状に連結された元の DNA の両端を表す配列を特定するのが目的である。大きいゲノム領域にまたがるクローンコンティグを早く作り上げるために染色体跳躍が用いられたが、その際には、既知配列（青色）から 80 ~ 130 kb 離れた配列（緑色）を見つけることが目指された。ペアエンドマッピングにより、参照ヒトゲノム配列と離れている距離が異なる配列を見つけることによって、研究対象のゲノム構造の多様性を特定することが目指された。

のデータベースであり、Decipher database (暗号解読データベース, <http://decipher.sanger.ac.uk/>) は、表現型に異常のある人々にみられた配列多様体を (ある特定の配列多様体が表現型異常の原因であるかどうか、確実に知られていることはめったにないけれども) 登録している。

現在利用可能になっている個人のゲノム配列は、表面上健全な個人に現存する多様性の全体図を印象的に示している。

ゲノム科学者のパイオニアである Craig Venter (クレイグ・ベンター) は、完全な二倍体ゲノム配列が決定された最初の個人であった。参照配列とされたヒトゲノム配列は多数の匿名提供者からの混成配列であった。この参照配列と比べて、ベンターのゲノムには以下の配列多様体が観察された。

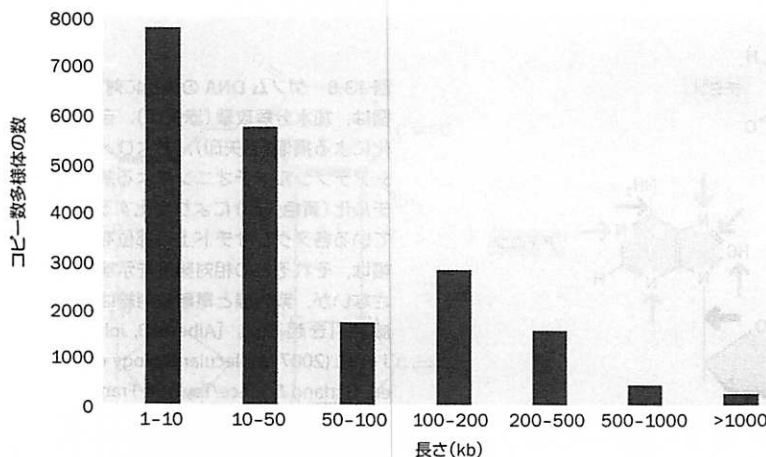


図 13.7 ヒトゲノムにおけるコピー数多様体の長さ分布

1 kb より長いものだけを表示。長さ分布における 100 ~ 200 kb にみられるピークの一部は、多くの研究で用いられた BAC アレイ技術に由来する人為的なものである。この長さ範囲として報告された多くのコピー数多様体が、実際にはこれより短い。[データは、Database of Genomic Variants, <http://projects.tcag.ca/variation>, accessed January 2009 より、許可を得て転載]

- 320 万の SNP
- 29 万のヘテロ接合欠失/挿入(1 ~ 571 bp にわたる)
- 559,000 のホモ接合欠失/挿入(1 ~ 82,711 bp にわたる)
- 90 の長い逆位
- 62 の大きなコピー数の配列多様性

合計で、12,290,978 塩基が参照配列と異なっていた。この多様性の大部分は非翻訳領域にあったが、ベンターの遺伝子の 44% は参照ヒトゲノム配列と比較した際に配列の差異を含んでいた。17% は異なるタンパク質をコードし、これらには、病原性の配列多様体をもつことが知られていた 317 の遺伝子が含まれていた。

James Watson (ジェームズ・ワトソン) の二倍体ゲノムもまた公にされ、330 万の SNP を含む同等の多様性を示している。これらにはタンパク質におけるアミノ酸変化を引き起こす 10,654 の SNP が含まれている。

13.2 DNA 損傷と修復機構

DNA の配列多様体のなかには、DNA 複製や組換えにおける誤りから生じるものもあるが、おもな原因は DNA 損傷の修復の失敗である。安全に細胞核中に収納されている安定した遺伝情報の保管所という観点から DNA をみれば、安定性を保つ困難さは意外に思われるかもしれない。外因性または内因性の要因による化学的攻撃と正常に機能している途中で生じる誤りが、ゲノムの維持(ゲノムの状態をそのままに保つこと)に持続的な脅威を引き起こす(図 13.8)。

13.2.1 細胞内 DNA は損傷修復と誤り修正を持続的に維持しなければならない

DNA を損傷する要因は、細胞外にある場合と、細胞内部の望ましくない化学反応の結果として生じる場合がある。

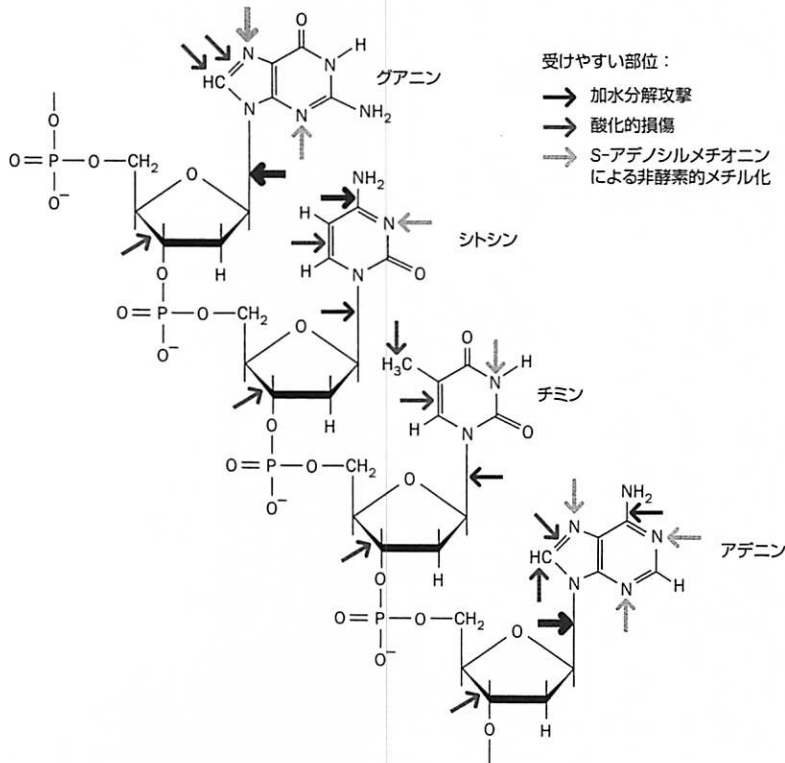


図 13.8 ゲノム DNA の維持に対する脅威
図は、加水分解攻撃(赤矢印)、自然に起こる酸化による損傷(青矢印)、およびメチル基供与体 S-アデノシルメチオニンによる制御の外れたメチル化(黄色矢印)により変化することが知られている各ヌクレオチド上の部位を示す。矢印の幅は、それぞれの相対頻度を示す。ここには示さないが、紫外線と電離放射線はこれ以外に脅威を引き起こす。[Alberts B, Johnson A, Lewis J et al. (2007) *Molecular Biology of the Cell*, 5th ed. Garland Science/Taylor & Francis LLC. より。Lindahl T (1993) *Nature* 362, 709-715 に基づき、Macmillan Publishers Ltd. の許可を得て掲載]

DNA 損傷の原因となりうる外因性の要因として、おもに3つがあげられる。

- 電離放射線 (ionizing radiation) : ガンマ線と X 線は、一本鎖あるいは二本鎖の糖-リン酸骨格切断を起こす可能性がある。
- 紫外線 (ultraviolet radiation) : UV-C (約 260 nm の波長をもつ) は特に障害が大きい。ヒトの紫外線障害のおもな原因はオゾン層を通過する太陽光中にある UV-B (280 ~ 315 nm) である。紫外線照射は、DNA 鎖上の隣接するピリミジン間で架橋形成を起こし、シクロブタン型ピリミジン二量体 (図 13.9D) などの異常な光反応生成物を形成する。

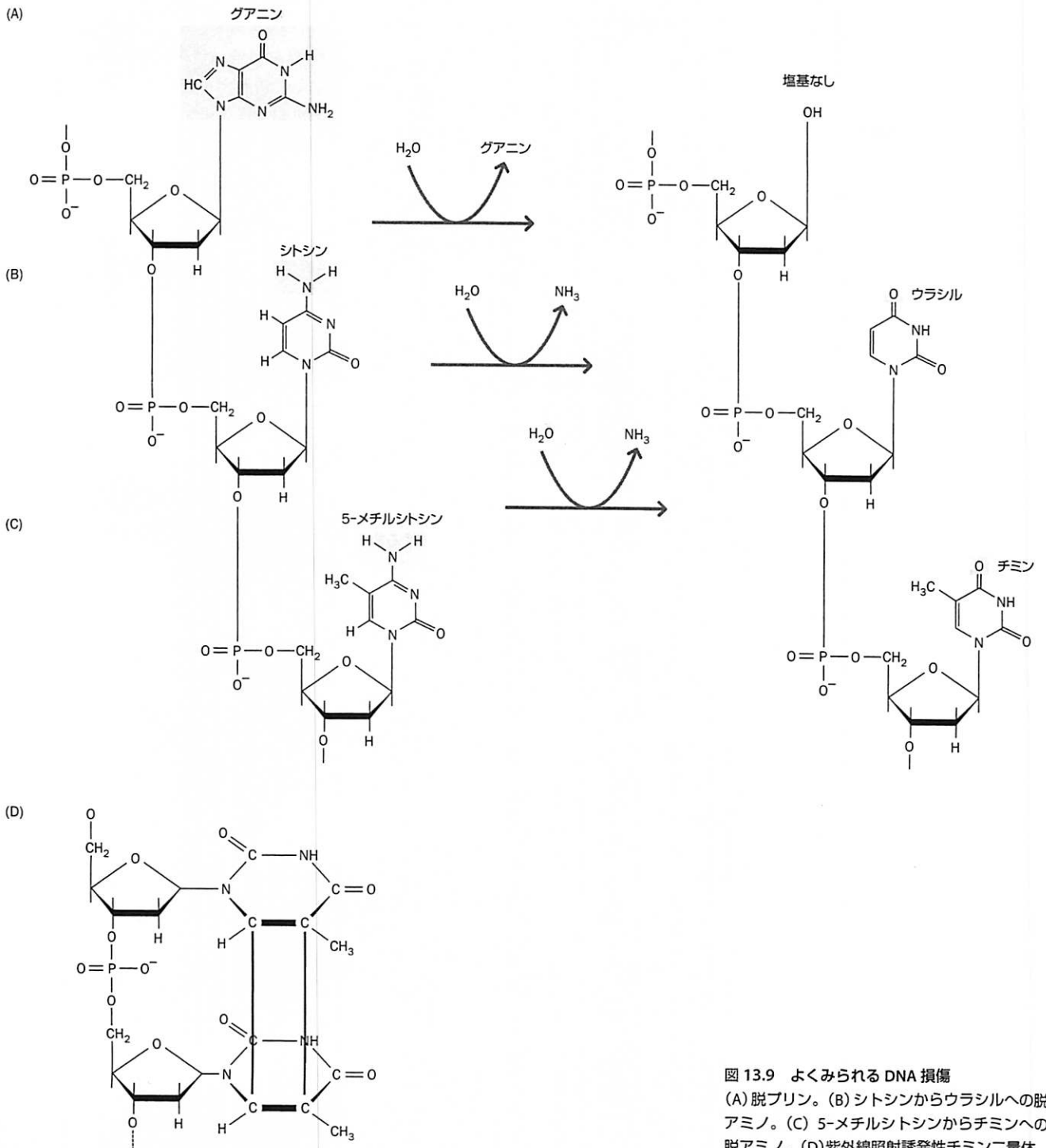


図 13.9 よくみられる DNA 損傷
(A) 脱プリン。(B) シトシンからウラシルへの脱アミノ。(C) 5-メチルシトシンからチミンへの脱アミノ。(D) 紫外線照射誘発性チミン二量体。

- 環境化学物質 (environmental chemical) : これらには、(例えば、タバコ煙中に含まれる)炭化水素、かびたピーナッツでみいだされたアフラトキシンなどの、ある種の植物および微生物からの産物や、がんの化学療法で使用される化学物質が含まれる。アルキル化剤は、メチル基や他のアルキル基を DNA 塩基に移すことができ、DNA 鎖内の塩基間あるいは DNA 鎖間で架橋形成を引き起こすことが可能である。

外因性の要因は目につきやすいが、細胞 DNA 安定性への主要な脅威には、図 13.8 と 13.9 に図示するように、内部の化学反応に由来するものが多い。

- 脱プリン (depurination) : 塩基-糖結合の自発的加水分解により、およそ 5000 のアデニンあるいはグアニン塩基が各有核ヒト細胞から毎日失われている (図 13.8 と 13.9A を参照)。
- 脱アミノ (deamination) : 各有核ヒト細胞で毎日少なくとも 100 のシトシンが自発的に脱アミノを起こして、ウラシルとなる (図 13.8 と 13.9B を参照)。さらに頻度は低いが、アデニンの自発的な脱アミノにより、ヒポキサンチンが産生される。
- 活性酸素種 (reactive oxygen species) による攻撃 : きわめて活性の高いスーパーオキシド陰イオン (O_2^-) と関連分子が、ミトコンドリア内における酸化的代謝の副産物として生成される。これらは、細胞構成分子への電離放射線の衝撃によっても産生される。こうした活性酸素種はプリン環やピリミジン環を攻撃する (図 13.8 参照)。
- 非酵素的メチル化 (nonenzymatic methylation) : S-アデノシルメチオニンによる偶発的な非酵素的 DNA メチル化は、細胞毒性塩基である 3-メチルアデニンを細胞あたり毎日約 300 分子、およびこれよりは毒性の低い 7-メチルグアニンを大量に産生する (図 13.8 参照)。これは、細胞が遺伝子発現の主要制御法として用いている、5-メチルシトシンを生成するシトシンの酵素的メチル化とはまったく異なっている (第 11 章参照)。メチル化されたアデニンあるいはグアニン塩基は、二重らせんを歪めて重要な DNA-タンパク質相互作用を妨げる。

これらの各種類の損傷に加えて、正常な DNA 代謝の間に誤り、すなわちエラーが起こる。ある一定のエラー率 (間違ったヌクレオチドの編入) は、DNA 複製に際して避けられない。校正機構は、誤りの結果として起こるミスマッチの大部分を修正するが、いくつかは配列多様体を生み出したまま残存する可能性がある。体細胞における校正機構の失敗は、がんの 1 つの原因である (第 17 章参照)。さらに複製か組換えの際にときに起こる誤りは、細胞の生存のためには修復しなければならないような切断を DNA 鎖に残す。

DNA 損傷の影響

DNA 損傷は、細胞に 2 つの影響を与える可能性がある。まず第 1 に細胞毒性である。DNA が複製される時、多種類の損傷により複製フォークの進行が止まってしまう。細胞周期の S 期を外れていても、転写の間に RNA ポリメラーゼは DNA の損傷部位で滞り、損傷している遺伝子の発現を妨げる。これらの問題は、潜在的に細胞に致命的となる。特別な複合タンパク質機構が細胞 DNA をたえず見回り、損傷を検出してこれに応じる。細胞周期の進行は、損傷が修復されるまで遅延され、また修復不能の損傷はアポトーシス (apoptosis) の引き金となる。DNA 損傷を検出して細胞応答を調整する機構の不具合は、第 17 章で説明するように、発がんにおいて主要な役割をはたす。

たとえ細胞が損傷 DNA とともに生き残ることができても、修復されていない損傷は変異原性となる傾向がある。変異が生殖細胞中に生じていると、本章で考察し

ている生物種内の多様性と同様に、進化のための原材料になりうる新たな多様性を集団にもたらすことになる。変異のおもな供給源は損傷乗り越え DNA 合成 (translesion DNA synthesis) で、その過程で誤りが生じやすい。精度の低いポリメラーゼ ζ (ゼータ) と ι (イオタ) は、停滞している複製フォークを迂回することで損傷を受けた DNA を複製できる (ただし、高いエラー率を代償にする)。また、変更された塩基は、DNA 複製で対形成を誤る可能性があり、こうして永久的な配列変化が導入される。例えば、シトシンの脱アミノによって作り出されたウラシルはアデニンと対になり、これは DNA への酸化的攻撃の産物である 8-ヒドロキシグアニンでも同様である。

5-メチルシトシンは、特別な場合に相当する。シトシンが脱アミノされると、その産物はウラシルである。これは DNA では不自然な塩基で、効率よく認識されて修復される。一方、5-メチルシトシンはチミンに脱アミノされるが、チミンは DNA では自然な塩基である (図 13.9C)。結果として生じる G-T ミスマッチが次回の DNA 複製の前に修正されなければ、1つの娘細胞が永久的な C→T 変異をもつことになる。進化研究とヒト疾患の両方から得られる証拠は、配列変化の供給源として 5-メチルシトシンの脱アミノの重要性を示している。メチル化シトシンは、ほとんどいつも CpG 配列 (すなわちシトシンの 3' 側のヌクレオチドがグアノシン) でみいだされるので、CpG 配列は変異の好発部位となる (第 8 章と第 11 章も参照)。

これらのさまざまな種類の損傷に対応して、細胞はあらゆる範囲の修復機構を配備する。異なる機構が異なる種類の損傷を修復する (BOX 13.3)。効果的な DNA 修復系の重要性は、DNA 修復にかかわる 130 あまりのヒト遺伝子、および修復系の欠陥がヒトにもたらす重篤な疾患をみればわかる。

13.2.2 DNA 複製, 転写, 組換え, および修復は、構成成分を共有する多タンパク質複合体を利用する

直接修復を除けば、どの修復系もエキソヌクレアーゼ、エンドヌクレアーゼ、ヘリカーゼ、ポリメラーゼ、およびリガーゼを必要とする (BOX 13.3 参照)。同じ機能の多くは DNA 複製、転写、および組換えにも必要である。大きい多タンパク質複合体がそのつど作用部位で組み立てられ、クロマチンのリモデリングを誘導する。ある機能のみに特異的にはたらく構成成分もあるが (さまざまな DNA ポリメラーゼなど)、複数の異なる機能ではたらく構成成分も多い。それらには、TFIIA (基本転写因子 IIA)、PCNA (増殖細胞核抗原)、RPA (複製タンパク質 A) などがある。転写因子 TFIIH はそれ自体、多タンパク質複合体で、2つの形ではたらく。一方は一般的な転写に関与し、もう一方は修復それもおそらく、実際に転写を行っている DNA を特異的に修復する。

13.2.3 DNA 修復における欠陥は多くのヒト疾患の原因となる

大腸菌と酵母の変異検索では、放射線や化学物質の損傷効果に敏感な変異を探すことによって修復経路の構成成分が同定された。ヒトでは、同様の調査に患者からの細胞株を使用した。複雑で多様なヒト遺伝性疾患は一部重複する表現型を示し、DNA 修復のどれかの局面における障害の存在が示唆される。これらには、色素性乾皮症 (OMIM 278700)、コケイン症候群 (OMIM 216400)、トリコチオジストロフィー (OMIM 601675)、ファンコニ貧血 (OMIM 227650)、毛細血管拡張性運動失調症 (OMIM 208900)、ナイミーヘン染色体不安定症候群 (OMIM 251260)、およびブルーム症候群 (OMIM 210900) がある。患者は、臨床的に日光過敏、神経系や骨格

BOX 13.3 ヒト細胞における DNA 修復機構

ヒト細胞は、少なくとも6つの異なる DNA 修復機構を使用する。これらのうち3つは、修飾された異常塩基が DNA 二本鎖の一方だけに存在している(すなわち、異常塩基が正常塩基と対になっている)とき、それを修正するのに使用される。異常塩基は修復されるか、あるいは取り除いて置き換えられる。

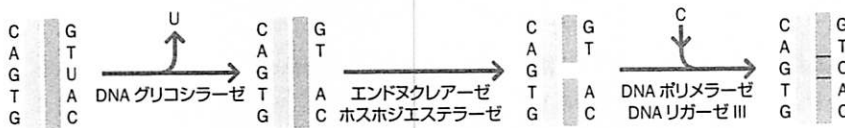
- 塩基除去修復 (base excision repair : BER) は、最も一般的な DNA 損傷を修復する(ヒトの各有核細胞あたり2万個程度の異常塩基を1日に修復する)。BER グリコシラーゼ酵素は、糖と塩基の結合を切断することによって異常塩基を取り除く(図1A)。ヒトは、異なる DNA グリコシラーゼをコードする少なくとも8つの遺伝子をもち、それぞれ決まった種類の塩基損傷を特定して取り除く役割を担う。異常塩基を取り外した後に、エンドヌクレアーゼとホスホジエステラーゼが、外された塩基部位で糖-リン酸骨格を切断して糖-リン酸残基を取り除く。できた間隙は DNA ポリメラーゼによる再合成で埋められ、残っている切れ目は DNA リガーゼ III によって連結される。
- ヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair : NER) は、チミン二量体と大きい化学的付加物を取り外す(図1B)。NER は、BER の

ように1塩基だけでなく、損傷の周囲で大きく取り除いてその部分を再合成する。糖-リン酸骨格は損傷部位で切断され、エキソヌクレアーゼが前後に連なる DNA を取り除く。BER と同様、間隙は再合成され、DNA リガーゼにより連結される。ヌクレオチド除去修復は、糖-リン酸骨格の一本鎖切断を修復するのににも使用される。

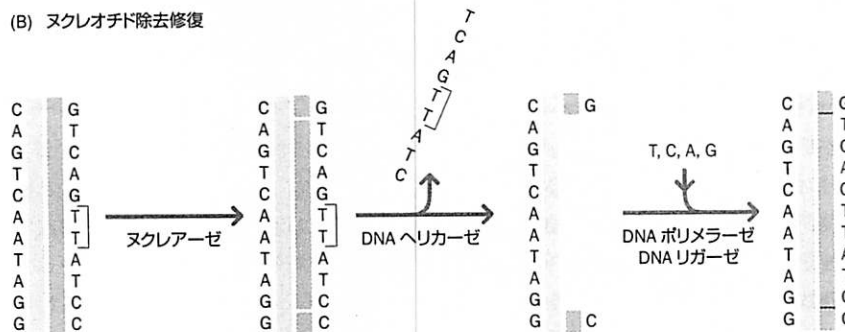
- DNA 損傷の直接修復 (direct reversal of the DNA damage) は、ヒトにおける DNA 修復でまれに使用される機構である。3つのヒト遺伝子がこの機構にかかわっている。そのなかで最もよく研究されているのは、 O^6 -メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼをコードするもので、この酵素は誤ってメチル化されたグアニンからメチル基を取り除くことができる。多くの生物において、紫外線照射が生み出すチミン二量体は、可視光エネルギーを使用することでフォトリアーゼ酵素によって直接分解される(光回復)。哺乳類はフォトリアーゼに類縁の酵素を保有しているが、体内時計の調節というまったく異なる目的のためそれらを使用する。

上述の修復過程では、もう一方の無傷の DNA 鎖が損傷鎖の正確な再建のための鋳型としてはたらく。DNA の二本鎖に影響する損傷には、別な機構が必要である。2つのおもな経路がある。

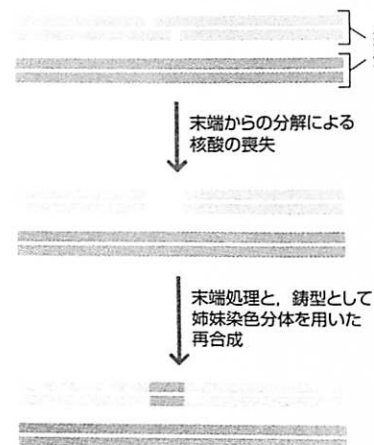
(A) 塩基除去修復



(B) ヌクレオチド除去修復



(A) 相同組換え



(B) 非同相末端結合

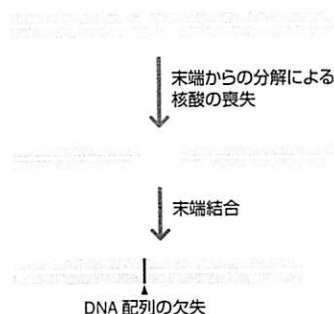


図1 DNA 修復機構

(A)塩基除去修復。(B)ヌクレオチド除去修復。

図2 DNA 二本鎖切断修復の2つの異なる方法

(A) 相同組換え。正しい配列は、完全な姉妹染色分体を鋳型として使用することで再合成される(分子機構の詳細は示していない)。これは正確な修復を実現するが、いつでも可能というわけではない。(B) 非同相末端結合はいつでも利用可能であるが、修復鎖の合流点に過剰なヌクレオチドや欠失するヌクレオチドが生じたり、ヌクレオチドが不足したりする。[Alberts B, Johnson A, Lewis J et al. (2007) Molecular Biology of the Cell, 5th ed. Garland Science/Taylor & Francis LLC. より]

- 相同組換え (homologous recombination) では、相同染色体からの一本鎖が破損している DNA に侵入して、正確な修復のための鋳型としてはたらく (図 2A)。この種類の修復は DNA 複製の後、細胞分裂の前に起こって、姉妹染色分体がかかわる。組換え修復のための真核細胞機構は、除去修復系に比べてよくわかっていない。この経路にかかわるヒトの遺伝子には、*NBN* (ナイミーヘン染色体不安定症候群; OMIM 602667), *BLM* (ブルーム症候群; OMIM 604610), および乳がん感受性遺伝子の *BRCA2* (OMIM 600185), および *BRCA1* (OMIM 113705) が含まれる。
- 非同相末端結合 (nonhomologous end joining) では、DNA 分子の断端で大きなタンパク質複合体が組み立てられ、DNA リガーゼがその配列にかかわらず断端を再連結する (図 2B)。断端からは、い

くらかの DNA 配列が常に失われる。これは、変異や染色体再編成の原因となる可能性のある窮余の策だが、修復されていない切断を残すよりはよい。染色体テロメアが特殊な構造を必要とする 1 つの理由は、この二本鎖切断応答から正常な染色体末端を保護することである。

残る修復機構は、複製エラーで引き起こされるミスマッチの修正に関するものである。ミスマッチ修復機能を欠く細胞は、正常細胞の 100 ~ 1000 倍の変異率をもち、特に縦列反復配列領域において複製のずれを起こす傾向がある (図 13.4 参照)。ヒトでは、その機構は少なくとも 5 つのタンパク質とかわかり、その欠陥はリンチ症候群 (OMIM 120435 と OMIM 609310) を引き起こす。詳細な機構は第 17 章で示す。

の問題、貧血、およびとりわけさまざまながんの高い発生率などの症候を呈する可能性がある。実験では、これらの疾患の患者由来の細胞はさまざまな DNA 損傷因子に過敏性を示す。

相補グループ

これらの症状の多くは、細胞融合試験 (図 13.10) を使用することによって一連の相補グループ (complementation group) に分割できる。もし 2 つの細胞、A と B が異なる修復遺伝子の機能を欠いているならば、それらの細胞が融合したとき、得られた融合細胞は両方の遺伝子の機能しているコピーを含むであろう。欠陥遺伝子 A をもつ細胞 A は、機能している遺伝子 B のコピーを供給し、遺伝子 B に欠陥をもつ細胞 B は、遺伝子 A の機能しているコピーを供給する。こうして融合細胞は、DNA 損傷に対する野生型耐性を回復するはずである。この方法を使用して、ヌクレオチド除去修復の欠陥 (BOX 13.3 参照) によって生じる色素性乾皮症患者由来の細胞が、7 つの異なるグループに分割された。どのグループからの細胞の欠陥でも、他のどのグループからの細胞でうまく相補される。DNA 損傷への細胞応答の欠陥が原因で生じるファンコニ貧血は、少なくとも 12 グループに分割された。一般に、臨床表現型は重複するが、各相補グループごとに異なる遺伝子が変異している。これらの遺伝性疾患とそれらの相補グループの詳細は; OMIM データベース (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) でみることができる。

これらのさまざまな相補グループの分子的研究により、ヒトの DNA 修復にかかわる多くの遺伝子が明らかになった。個々の経路の分類整理は、あらゆる生物種間で修復機構が非常に強く保存されていることで大いに助けられた。反応機構だけではなく、タンパク質構造と遺伝子配列も大腸菌からヒトまでしばしば保存されている。一般に、真核生物は、大腸菌の各単一機構に対応する複数の機構をもつ。例えば、ヌクレオチド除去修復は、大腸菌では 6 個のタンパク質を必要とするが、哺乳類では少なくとも 30 を必要とする。修復機構が保存されていることのマイナス面は、紛らわしい遺伝子名である。ときにはヒト疾患 (例えば色素性乾皮症 D 型 [XPD]) を、ときには酵母の変異 (*RAD* 遺伝子) を、そしてときには哺乳類細胞相補系 (ERCC: 除去修復交差相補系) を参照し命名している。実際には、*XPD*, *ERCC2*, および *RAD3* は、ヒト、マウス、および酵母の同じ遺伝子である。

DNA 損傷因子への高い感受性が関連するすべての疾患が、DNA 修復系自体における欠陥によって引き起こされるわけではない。ときに、障害に対するより広範な細胞応答に欠陥が生じている。正常な細胞は、損傷が修復されるまでチェックポイントで細胞周期の進行を停滞させるか、または損傷が修復できないならアポトーシスを引き起こして DNA 損傷に反応する。毛細血管拡張性運動失調症とファンコニ

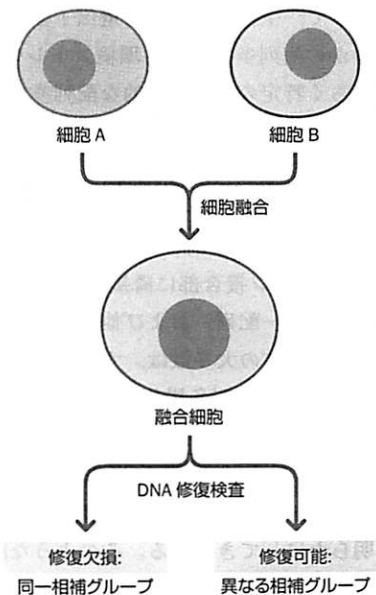


図 13.10 DNA 修復欠陥遺伝子の相補グループへの配分

2 人の血縁関係のない患者 (A と B) からの修復欠陥細胞株を、細胞培養で融合し、融合細胞について DNA を修復する能力を検査する。もし融合細胞に DNA 修復能力があるなら、その場合、細胞 A と B は異なる相補グループに属し、おそらく異なる DNA 修復遺伝子に欠陥を含む。融合細胞がなお DNA 修復能力を欠いているなら、その場合、A と B は同じ相補グループに属し、同じ DNA 修復遺伝子に欠陥をもっている可能性がある。

貧血の患者は完全な修復系をもっているが、損傷検知機構あるいは反応機構に問題がある。細胞周期制御とアポトーシス反応における欠陥は、がん発生の主要メカニズムである。第17章では、それらについてより詳しく述べる。

13.3 病原性のDNA配列多様体

前述のように、健常人のゲノムには膨大な数の配列多様体がある。これらの大多数は完全に無害であり、表現型に影響を与えることは知られていない。表現型に影響することがわかっているものであっても、その影響の大部分は、我々の個性となる正常な多様性の一部である。しかし、特別な関心は、病原性の配列多様体に自然に向かう。すなわち、我々に疾患を引き起こすか、または疾患に罹患しやすくする配列多様体である。

13.3.1 DNA配列変化が病原性となるかどうかの決定は困難なことがある

罹患者でみられるすべての配列多様体が病原性となるわけではない。きわめて健康な人であっても、が無数の配列多様体をもつ。遺伝性疾患の患者でも同じことがあてはまる。そのような個体でみられる配列変化がそれら疾患の原因であるか、あるいは無害な配列多様体であるかを、どうしたら決めることができるだろうか。遺伝子機能検査だけが決定的な答えを与えることができるが、機能検査を臨床検査室の業務に組み入れることはしばしば困難である。そもそも、ほとんどの遺伝子産物について、生体内における遺伝子機能のすべての面を調べるような検査はない。いくつかの配列多様体は、環境ストレス下においてのみ病原性であることがあるし、おそらく特定の他の遺伝的な配列多様体と組み合わせるときのみ、疾患を発症するような微妙な影響を与えるものもある。

明確な機能検査がないとき、配列変化の性状がしばしば手がかりを提供する。まず最初に、機能的であることが知られている配列にその多様体が発現するかどうか調べることができる。そのような配列は、遺伝子のタンパク質コード配列、エキソン-イントロン接合部に隣接する配列(スプライス部位)、遺伝子のすぐ上流にあるプロモーター配列、および他の既知の調節配列を含む可能性がある。既知の病原性の配列多様体の大多数は、すでに機能的であることが知られている配列に影響するし、こうした配列多様体はヒトの総DNA中わずかな比率だけを占める。しかし、既知の機能的配列の外に位置すると思われる配列多様体が、いまだ未確認の機能的配列内に存在している可能性は常にありうる。第11章でみたように、ENCODEプロジェクトは、以前には予測されていなかったヒトゲノムにある多くの機能的配列を明らかにしてきている。そのような配列は、直接なんらかの疾患を引き起こすというより、単に疾患への感受性を変える配列多様体の存在部位であるように思われる。

もしある配列多様体が既知の機能的配列に影響するなら、その効果を予測するよう努めなければいけない。遺伝暗号の表(図1.25参照)を参照すれば、コード領域の配列多様体が、遺伝子のタンパク質産物に及ぼす効果を特定できる。以下に述べるように、ナンセンス変異、フレームシフト、および多くの欠失は間違いなくタンパク質を破壊すると予測できる。同様に、スプライス部位にあるGT...AG共通配列での変化は、病原性となる可能性が高い。単に1つのアミノ酸を異なったものに置き換える変化(ミスセンス変化[missense change])は、解釈がより難しい。

もう1つのアプローチは、先例を探すことである。おそらくどの多型も、一塩基多型のデータベースであるdbSNPにすでに登録されている(上記参照)。あるいは

また、章末「参考文献」にある、病原性変異に関するデータベースのどれかに登録されているかもしれない。別の種類の先例は、類縁遺伝子の正常配列を調べることによって求めることができる。類縁遺伝子は、ヒトの遺伝子(パラログ)でも、別の生物種の遺伝子(オーソログ)でもよい。もし、その配列多様体が類縁遺伝子の正常な野生型配列として存在しているなら、病原性である可能性は低い。

この問題については第 18 章で別の側面から考察し、そこでは遺伝学的検査について議論する。本節の残りでは、機能的配列における変化が病原性となる多数の例のうちのいくつかを考察する。

13.3.2 一塩基変化と他の小規模な変化は、通常みられる病原性変化である

遺伝子のコード領域、あるいは調節領域のどちらかにおける小規模な配列変化は、しばしば病原性変化の原因となる。

ミスセンス変異

ある遺伝子のコード配列内における一塩基置換は、コードされたタンパク質の配列を変更しうる。遺伝暗号は縮重しており、64 コドンが 20 種類しかないアミノ酸(および 3 つの終止コドン)をコードする。したがって、コドン変化のいくつかはアミノ酸を変更しない。それらは、静的あるいは同義的である。コドン変化が確かにアミノ酸変化をもたらすときに(非同義的变化)、その効果の一部は新旧アミノ酸の化学的相違に依存する。第 1 章で説明したように、20 種類のアミノ酸は、酸性、塩基性、非荷電極性、および非荷電非極性に分類できる。あるアミノ酸を同じ型の別のものに置き換える(保存的な置換)のは、非保存的な置換に比べて立体構造への影響が少ない。システインを加えたり取り除いたりすると、ジスルフィド架橋を形成する潜在能力を変更するため、大規模な構造変化の原因となる場合がある。類似性対応表が作成されており、すべての置換について考えられる破壊的效果を量的スコアで表すことができる(章末「参考文献」参照)。

アミノ酸のいくつかは、特定のタンパク質の機能になくしてはならない。例えば、酵素の活性部位にあるタンパク質などがその例である。また、タンパク質構造の維持に重要なものもある。球状タンパク質は、内部に非荷電非極性アミノ酸を、また外部に荷電アミノ酸をもつ傾向があり、これを変えるどんな置換も三次元的折りたたみを混乱させうる。鎌状赤血球変異(図 13.11)は、グロビン分子の外側にある極性アミノ酸を非極性のものに置き換えるため、病原性である。この変化は、それら分子を凝集しやすくする。さまざまな疾患、特に進行性の神経変性疾患における一般的な発症機序として、異常タンパク質が粘着性の外部領域をもつようになった結果としてのタンパク質凝集が浮上してきている。これは p. 491 でさらに議論する。

これらの効果を確実に予測することは、そうそうできるものではない。タンパク質の三次元構造が解明されれば役に立つだろう。1 つの置換が構造に及ぼしうる効果をモデル化できるからである。もし(ヒトあるいは他の生物種の)類縁タンパク質のアミノ酸配列が知られているなら、どのアミノ酸が不変であるか、またどれが種の間で幅広く自由に変化するようにみえるかを知ることができる。ほとんどのアミノ酸置換は、タンパク質の機能におそらく何も影響を与えない。

ナンセンス変異

遺伝暗号の 64 コドンのうち 3 つは終止コドンであるので、タンパク質の内部アミノ酸コドンを終止コドンに変換するような塩基置換は、きわめてありふれている。リボソームが終止コドンに遭遇すると mRNA から解離し、新生ポリペプチドは放

(A)

正常 HBB 遺伝子	V	H	L	T	P	E	E	K	S
	GTG	CAT	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG	TCT
鎌状赤血球変異	V	H	L	T	P	V	E	K	S
	GTG	CAT	CTG	ACT	CCT	GTG	GAG	AAG	TCT

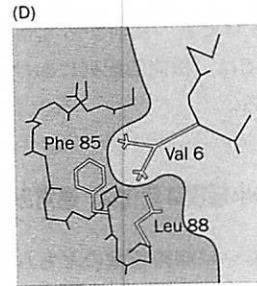
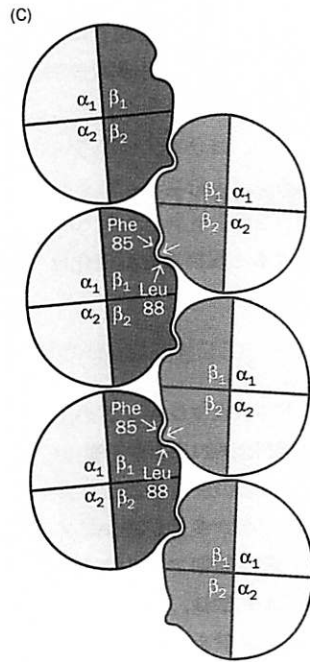
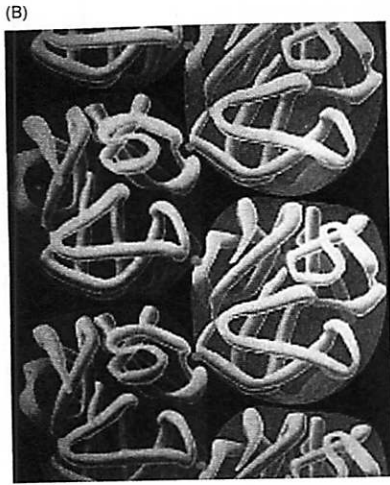


図 13.11 鎌状赤血球変異

(A) β グロビン (*HBB*) 遺伝子における変異は、 β グロビタンパク質におけるアミノ酸変化をもたらす。鎌状赤血球変異 (A \rightarrow T) は、親水性荷電アミノ酸であるグルタミン酸を疎水性非極性アミノ酸であるバリンに置き換える。(B,C,D) グロビタンパク質表面のこの変化は、ヘモグロビン分子間の相互接着作用を可能にする。その結果、鎌状赤血球貧血となる。本疾患では、ヘモグロビン分子が凝集することで赤血球の形態変化をきたし、その効率的な作用が阻害される。[B,C,D は、Nelson DL & Cox M (2008) *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th ed. より、Palgrave Macmillan の許可を得て掲載]

出される (図 13.12A)。しかし、早期終止コドンを含む遺伝子は、予測されるような短縮タンパク質の生産の原因とはほとんどならない。細胞は、ナンセンス変異介在性分解 (nonsense-mediated decay: NMD) という、早期終止コドンを含む mRNA を検出してそれらを分解する機構をもつ。したがって、ナンセンス変異の通常の結末として、その遺伝子の発現が防がれる。

スプライシングのすんだ mRNA は核からリボソームへ移行するが、イントロン部位を記憶しているため、NMD がはたらく。スプライシング装置は、スプライス部位にエクソン接合部複合体 (exon junction complex: EJC) タンパク質を結合させ

(A)

正常	265	V	W	F	S	N	R	R	A	R	W	R	K	Q	A	G	A	N
		GTC	TGG	TTT	AGC	AAC	CGC	CGT	GCA	AGA	TGG	AGG	AAG	CAA	GCT	GGG	GCC	AAT
変異	265	V	W	F	S	N	R	R	A	R	終止	R	K	Q	A	G	A	N
		GTC	TGG	TTT	AGC	AAC	CGC	CGT	GCA	AGA	TGA	AGG	AAG	CAA	GCT	GGG	GCC	AAT

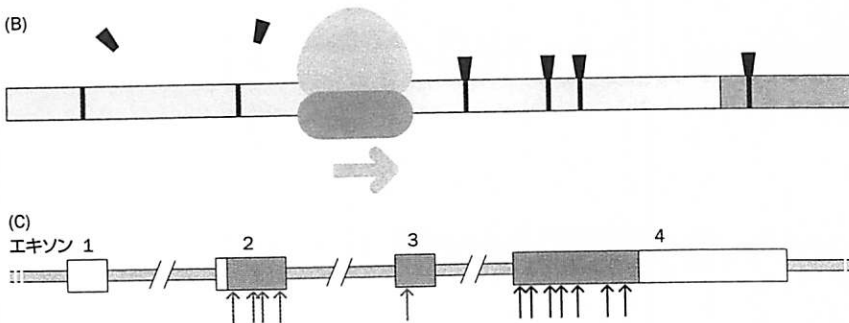


図 13.12 ナンセンス変異とナンセンス変異介在性分解

(A) *PAX3* 遺伝子のエキソン 6 における G \rightarrow A 変異は、トリプトファン 274 のための TGG コドンを TGA 終止コドンに置き換える。(B) ナンセンス変異介在性分解 (NMD)。この成熟 mRNA は、7 つのエキソンをもつ遺伝子から転写された。スプライス部位 (赤色縦線) は、エクソン接合部複合体 (EJC, 赤色くさび形) タンパク質を保持している。最初のリボソームは mRNA に沿って動くに連れて、EJC タンパク質を外して行く。もしリボソームが、本来の終止コドンでない TGA に遭遇してすべての EJC を取り除く前に解離する場合は、その mRNA は分解の標的となる。最後のエキソン、あるいは最後のスプライシング接合部の上流 50 ヌクレオチド未満 (緑色の領域) にある終止コドンは、NMD の引き金にならない。(C) 早期終止コドンが NMD の引き金となるかどうかによって、ナンセンス変異の結果が非常に異なる場合がある。*SOX10* 遺伝子の変異 (緑色矢印) は分解の引き金となり、その結果ワールデンブルグ症候群 4 型 (聴力損失、色素異常、ヒルシュスプルング病; OMIM 277580) となる。その mRNA の 3' 領域におけるナンセンス変異 (赤矢印) は NMD を逃れ、はるかに重篤な神経学的表現型を引き起こす。青色領域がコード配列であり、白色領域は遺伝子の 5' および 3' 非翻訳領域である。

たままにする。第 1 回目の翻訳の間、リボソームが各スプライス部位を通過するとき、その部位に結合した EJC タンパク質が取り除かれる。早期終止コドンがあると、リボソームはすべてのスプライス部位を通過する前に mRNA から解離してしまう。その場合、EJC タンパク質の一部は mRNA に結合したままとなり、これがその mRNA を分解する目印となる (図 13.12B)。

NMD は常に完全に効果的であるわけではない。遺伝子の最終エキソン、または最終スプライス部位の上流およそ 50 スクレオチド未満にある早期終止コドンには適用されない。場合によっては、終止コドンがこの保護領域外にあるときであっても、いくらかの量の短縮タンパク質が作り出されることがある。短縮タンパク質は正常タンパク質の機能を妨げる可能性があるため、単にそのタンパク質が欠失しているより潜在的な病原性が高い (図 13.12C)。こうした優性ネガティブ効果については、本章後半で論ずる (p. 498 参照)。NMD は、この問題から逃れるために生じてきた機構と考えられている。

一次転写産物のスプライシングに影響する変化

スプライシングの位置は、それほど厳密ではないスプライス部位認識共通配列の中に組み込まれた (ほとんど) 不変な GT...AG 配列によって刻印されている (第 1 章参照)。不変な GT...AG 配列を変化させる変異は常にスプライソソームによるスプライス部位の認識を妨げるので、その部位のスプライシングを混乱させるであろう (図 13.13A)。ただし、他のさまざまな配列変化もまたそれに影響する可能性がある。スプライシングは全か無かの過程ではない。第 11 章で述べているように、スプライス部位は強くも弱くもなりうる。弱いスプライス部位もさまざまに用いられるため、ほとんどのヒト遺伝子はさまざまな選択的スプライシング転写産物を産生する。スプライシングエンハンサー配列あるいはサブレッサー配列は、SR (セリンとアルギニンに富む) タンパク質と hRNP (ヘテロリボ核タンパク質) ファミリーのタンパク質を、おそらく時期特異的な、または組織特異的な方法で結合することにより、隣接するスプライス部位の強度を調節する。これらの調節配列の 1 つが、複

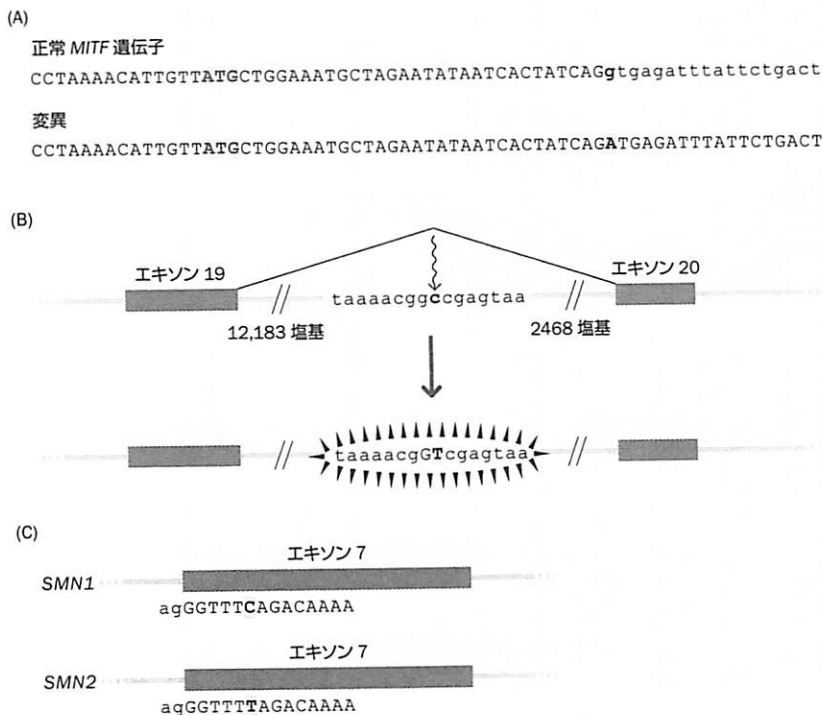


図 13.13 スプライシングに影響する変異

(A) *MITF* 遺伝子では、イントロン 1 の位置を示す不変の GT 配列における G → A 変化は、常にスプライシングを混乱させる。エキソン配列は大文字で、イントロンは小文字としている。翻訳開始コドンは緑色文字である。(B) *CFTR* 遺伝子によってコードされている嚢胞性線維症膜貫通調節タンパク質のイントロン 19 の中央部にある一塩基変化 (3849+10 kb C → T と呼ばれるが、実際に変化する塩基は 10 kb ではなく、エキソン 19 の 3' 末端から 12,191 塩基の位置) は、潜在的なスプライス部位を活性化する。変化した配列は、強力なスプライス供与部位となる。(C) 一見は静的であるがスプライシングに影響する変化。*SMN1* 遺伝子は高度に発現されるが、*SMN2* 遺伝子はタンパク質をほとんど作り出さない。その違いは、エキソン 7 における TTT → TTC 変化のためである。TTT と TTC は両方ともフェニルアラニンをコードするが、TTT はスプライシングエンハンサーを不活性化し、*SMN2* におけるイントロン 6-エキソン 7 接合部での正しいスプライシングを妨げる。

数のスプライシングアイソフォームを産生する遺伝子で変異した場合、その影響はアイソフォーム間のバランスを変えるだけかもしれない。さまざまなアイソフォームの機能によるが、この変異によりすべての遺伝子機能を失うか、あるいは組織特異的なアイソフォームパターンを変化させるといった、より微妙な変更をきたすかもしれない。

スプライス部位の不活性化変異は、通常、遺伝子あるいは少なくともその部位を用いるすべてのアイソフォームの機能を破壊するであろうが、正確な分子的出来事は予測しにくい。ある場合はエキソンがスキップされるであろうし、イントロン配列が成熟 mRNA で保持されることもあるだろう。隣接している潜在的スプライス部位が用いられることもしばしば起きる。潜在的スプライス部位 (cryptic splice site) は、正しいスプライス部位に類似する一次転写産物内 (エキソンまたはイントロン) の配列だが、細胞がごくふつうにそれと認識するほど十分に類似しているわけではない (図 13.13B)。潜在的スプライス部位のヌクレオチド置換が起きると、類似性が増して機能的部位に変化することもあるだろう。これにより転写産物の正しい処理が中断されたり、正しいスプライス部位の強さが減少して近傍の潜在的スプライス部位が優先的に利用されるようになったりするかもしれない。

変異がスプライシングに影響するかどうかは、DNA 配列からはしばしば予測しにくい。静的であるはずのミスセンス変異が、スプライシングに及ぼす影響を通じて実際には病原性となる可能性がある。2つのヒト SMN 遺伝子の違いは、そのような効果を例証している (図 13.13C)。SMN 遺伝子の、重複によって生じたわずかに異なる少なくとも2つのコピーが、染色体 5q13 でみいだされる。セントロメアに最も近いコピーは高度に発現されているが、それよりテロメア側の1つあるいは複数のコピーはほとんどタンパク質を産生しない。こうした違いは、エキソン7における TTT → TTC 変化のためである。この変化は一見は静的 (TTT と TTC のいずれもフェニルアラニンをコードする) であるが、スプライシングエンハンサーを不活性化して、イントロン6-エキソン7接合部での正しいスプライシングを妨げる。セントロメア SMN 遺伝子の機能喪失に関してホモ接合である個体は脊髄性筋萎縮症 (ウェルドニッヒ-ホフマン病; OMIM 253300) に罹患するが、発現の弱いテロメア SMN 遺伝子を複数コピーもつ患者は重症度が軽減されている。

スプライス部位の強さを推定したり、ミスセンス変異がスプライシングの増強あるいは抑制に影響する可能性があるかどうかを調べるコンピュータプログラムがあるが、RT-PCR によって得られた実際の実験データに取って代わるものではない。これはまた、嚢胞性線維症 3849+10 kb C → T 変異 (図 13.13B 参照) のように、イントロンの中央部にある潜在的スプライス部位を活性化する変異を特定しうる唯一の方法である。

フレームシフト

翻訳の読み枠は、開始コドン AUG によって規定される。3の倍数でない数のヌクレオチドの挿入あるいは削除をもたらす、開始コドンの下流に生じた変化は、いずれもフレームシフトを引き起こす (図 13.14)。コード配列全長に対するすべての無作為変化の3回に2回は、フレームシフトを引き起こすと予想される。生じうる

- (A)
ACAUGUUAUGNOWYOU CANSEEHOWTHE RNA CAN GET HIT
- (B)
ACAUGUUAUG NOW YOU CAN SEE HOW THE RNA CAN GET HIT
- (C)
ACAUGUUAUG NOW YOU CAN TSE EHO WTH ERN ACA NGE THI T

図 13.14 読み枠

この連続する文字の配列 (A) は、翻訳開始シグナル AUG (緑字) を使用して正しい読み枠を確立する (B)。1文字 (赤字) の挿入 (あるいは削除) はその意味を破壊する (C)。

64 のコドンのうちの 3 つが終止コドンであるので、枠を外れて情報を読めば通常、すぐに早期終止コドンにつき当たるであろう。その際に最も起こりうるのは、ナンセンス変異介在性分解が起きて、タンパク質がまったく作られなくなる結果である。1 つの例は、細胞間ギャップ結合の一成分であるコネクシン 26 をコードする *GJB2* 遺伝子にみられる。この遺伝子にある 6 連続 G スクレオチドは、複製のずれを起こしやすく、早期終止コドンを生じやすい(図 13.15)。この変異は、ほとんどのヨーロッパ集団において、最も頻度の高い常染色体劣性先天性難聴 (OMIM 220290) の原因である。

フレームシフトの原因にはいくつかの種類がある。単一エクソン中の小さい挿入や欠失と同様に、異常なスプライシングあるいは全エクソン削除や重複は通常、フレームシフトの原因となる。多くのエクソンが読み枠的に中立ではない(すなわち、エクソンのヌクレオチド数が 3 の倍数ではない)ので、欠失や誤ったスプライシングのため 1 つ以上のエクソンが取り除かれると、しばしばフレームシフトが生じることになる。ほとんどのイントロンはそれらが接するエクソンよりはるかに大きいので、大多数の遺伝子において無作為の遺伝子内欠失や重複の開始点はイントロンに存在するであろう。その結果、1 つ以上のエクソン全体が欠失するか重複することとなる(図 13.16)。

遺伝子の発現レベルに影響する変化

調節配列の配列多様体は、遺伝子の転写レベルに影響するかもしれない、そのため遺伝子産物が完全に正常であってもほとんど産生されない(あるいは過剰に生産される)場合がある。最もわかりやすいのは、プロモーター配列が変化してこうしたことが起こる例である。実際には、そのような変化はほとんど報告されていない。これは一部には、臨床研究では通常、プロモーターの配列決定を行わないからである。もし変化を実際に見つけたとしても、その意味をどう解釈するか理解しがたいであろう。第 1 章で述べたように、プロモーターはさまざまな転写因子のためのコ

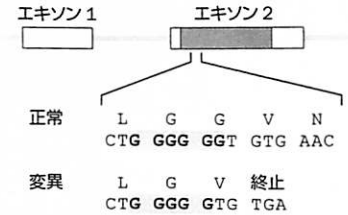


図 13.15 単純なフレームシフト

GJB2 遺伝子にある G 塩基の 6 連において複製のずれが起こると、1 塩基削除によるフレームシフトが生じる。この変異は、エクソン 2 に予期せぬ終止コドンを作り出す。

イントロン/エクソン	長さ(bp)	読み枠	DMD あるいは BMD を引き起こす欠失
イントロン 41	31,823		
エクソン 42	195	0	
イントロン 42	22,380		
エクソン 43	173	-1	
イントロン 43	70,465		
エクソン 44	148	+1	
イントロン 44	248,401		
エクソン 45	176	-1	
イントロン 45	36,111		
エクソン 46	148	+1	
イントロン 46	2334		
エクソン 47	150	0	
イントロン 47	54,222		
エクソン 48	186	0	
イントロン 48	38,368		
エクソン 49	102	0	
イントロン 49	16,634		

図 13.16 ジストロフィン遺伝子における欠失の影響

この遺伝子は、大きなイントロンによって挟まれた 79 の小さいエクソンからなる。本遺伝子での全変異の約 65% は、遺伝子内欠失である。イントロンがエクソンよりはるかに大きいため、分断点はほとんどいつもイントロンにある。その効果により、1 つ以上のエクソン全体が削除される。これがフレームシフト(赤色縦線)をきたす場合、重篤なデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD; OMIM 310200)を引き起こす。削除されたエクソンが読み枠的に中立であるなら(緑色縦線)、欠失範囲が DMD を引き起こすものよりさらに大きいときでも、その結果はより軽症のベッカー型筋ジストロフィー(BMD; OMIM 300376)となる。

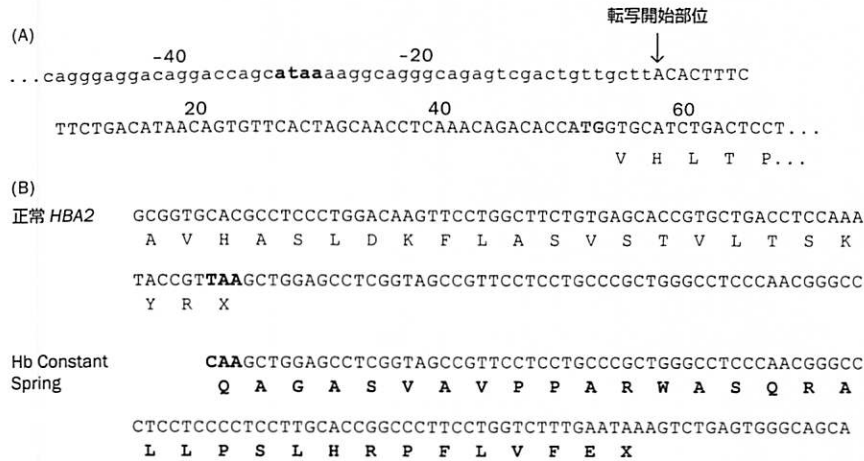


図 13.17 サラセミアをきたす 2 つのグロビン遺伝子変異

(A) β グロビン遺伝子の -31 から -28 の部位における塩基置換(赤色)はいずれも、 β サラセミアに関連する。これらのヌクレオチドはプロモーターに不可欠な TATA ボックスを構成している。エキソン配列は大文字で、翻訳開始コдонは緑字で示している。(B) 主要 α グロビン遺伝子 HBA2 の配列多様体(Hb Constant Spring)は、正常終止コドンでの TAA \rightarrow CAA 置換をもつ。得られたタンパク質は(赤で示す) 31 の追加アミノ酸をもち、不安定であるため α サラセミアを引き起こす。この遺伝子のエキソン 3 の配列をここに示す。

ンセンス結合部位を含むことがあり、配列変化の影響は通常、実験で決定できるだけである。

α あるいは β サラセミア患者では、転写に影響する変異が徹底的に探索されてきた。この疾患は、それぞれ α あるいは β グロビンの量的欠乏によって引き起こされる型の貧血である。したがって、この種の変異の主要候補疾患であった。 α サラセミアは、最も一般的には活性のある α グロビン遺伝子数の減少によって引き起こされる(以下を参照)。 β グロビン遺伝子プロモーターにいくつかの変異が特定された(OMIM 141900 の変異一覧 370 ~ 381, および図 13.17A 参照)が、 β サラセミア変異の大多数は、直接転写を抑制するのではなく不安定な mRNA や不安定なグロビタンパク質を作り出すことによって作用する。よくみられる変化は次の 3 種類である。

- 多くのサラセミア変異はスプライシングの誤りかナンセンス変異で、早期終止コドンを作り出し mRNA のナンセンス変異介在性分解をもたらす。
- 3' 非翻訳領域における変化は、mRNA を不安定にする可能性がある。この領域の変化は、マイクロ RNA や翻訳調節タンパク質の重要な結合部位を作り出すか破壊する可能性がある(第 11 章参照)。
- 細胞は非常に効率よく、不適切に折りたたまれている異常タンパク質を検出して分解する。例えば、 α サラセミアの 1 つの型は、 α グロビン遺伝子の通常の TAA 終止コドンが CAA に変化することによって引き起こされる。CAA はグルタミンをコードし、mRNA の翻訳はもう 1 つの終止コドンに遭遇するまでさらに 31 アミノ酸の間続く(図 13.17B)。この多様体ヘモグロビン(Hb Constant Spring)は不安定で、 α グロビン鎖の量的欠乏から結果として臨床的に α サラセミアとなる。

病原性となる同義的(静的)変化

上述したように、同義的变化とは、ある特定のアミノ酸のコドンと同じアミノ酸をコードする別のコドンに変換するヌクレオチド置換である。そのような変化には、少しの表現型効果もないと予想されるだろうが、ときには、変化したヌクレオチドがスプライシングのエンハンサーあるいはサプレッサーの一部にあって、スプライシングに影響が生じる。上述したように、脊髄性筋萎縮症における静的な TTC \rightarrow TTT 変化は、正しくスプライシングされた活性のある遺伝子と、誤ってスプライシングされた不活性遺伝子の違いを示している(図 13.13C 参照)。スプライシングに影響しない静的変化であっても、完全に中立ではないかもしれない。

FEN1は、岡崎フラグメントを重ね合わせる際に張り出しを切断する。反復配列伸長の1つの機構として提唱されているのは、FEN1が切り落としに失敗し、結果として重なり合う断片どうしが端と端とで結合されるというものである。ある長さまでの反復は安定である、そして多くの場合、反復配列が岡崎フラグメントの典型的な長さに達するときに、不安定性の閾値を超えるであろうと指摘するのは重要であろう。すべての動的変異が病原性であるわけではないが、いくつかは病原性である(表13.1)。他の動的変異は、特定のヒトの細胞が複製ストレス下にあるとき、細胞遺伝学的に観察される非病原性脆弱部位にかかわる(図13.5参照)。例えば、16番染

表13.1 不安定なヌクレオチド反復配列の伸長によって引き起こされる疾患

疾患	OMIM 番号	遺伝形式 ^a	遺伝子の名前と位置	反復部位	反復配列	安定な反復数	不安定な反復数
1. コード配列外における大規模な反復配列の伸長							
脆弱 X 症候群部位 A (FRAXA)	309550	X	FMR1 Xq27.3	5' 非翻訳領域	(CGG) _n	6 ~ 54	200 ~ 1000+
脆弱 X 症候群部位 E (FRAXE)	309548	X	FMR2 Xq28	5' 非翻訳領域	(CCG) _n	4 ~ 39	200 ~ 900
フリードライヒ失調症 (FRDA)	229300	AR	FXN 9q13	イントロン1	(GAA) _n	6 ~ 32	200 ~ 1700
筋強直性ジストロフィー 1型(DM1)	160900	AD	DMPK 19q13	3' 非翻訳領域	(CTG) _n	5 ~ 37	50 ~ 10,000
筋強直性ジストロフィー 2型(DM2)	602668	AD	ZNF9 3q21.3	イントロン1	(CCTG) _n	10 ~ 26	75 ~ 11,000
脊髄小脳失調症 10型 (SCA10)	603516	AD	ATXN10 22q13.31	イントロン9	(ATTCT) _n	10 ~ 20	500 ~ 4500
ウンフェルリヒトールントボルグ型ミオクローヌスてんかん	254800	AR	CSTB 21q22.3	プロモーター	(CCCCGC CCGCG) _n	2 ~ 3	40 ~ 80
2. コード配列内における中程度の CAG 反復配列伸長							
ハンチントン病(HD)	143100	AD	HD 4p16.3	コード領域	(CAG) _n	6 ~ 34	36 ~ 100+
ケネディ病(SBMA)	313200	X	AR Xq12	コード領域	(CAG) _n	9 ~ 35	38 ~ 62
脊髄小脳失調症 1型 (SCA1)	164400	AD	ATXN1 6p23	コード領域	(CAG) _n	6 ~ 38	39 ~ 82
脊髄小脳失調症 2型 (SCA2)	183090	AD	ATXN2 12q24	コード領域	(CAG) _n	15 ~ 24	32 ~ 200
マシャド-ジョセフ病 (SCA3)	109150	AD	ATXN3 14q32.1	コード領域	(CAG) _n	13 ~ 36	61 ~ 84
脊髄小脳失調症 6型 (SCA6)	183086	AD	CACNA1A 19p13	コード領域	(CAG) _n	4 ~ 17	21 ~ 33
脊髄小脳失調症 7型 (SCA7)	164500	AD	ATXN7 3p14.1	コード領域	(CAG) _n	4 ~ 35	37 ~ 306
脊髄小脳失調症 17型 (SCA17)	607136	AD	TBP 6q27	コード領域	(CAG) _n	25 ~ 42	47 ~ 63
歯状核赤核淡蒼球ルイ 体萎縮症(DRPLA)	125370	AD	DRPLA 12p13.31	コード領域	(CAG) _n	7 ~ 34	49 ~ 88
3. その他の動的な伸長							
脊髄小脳失調症 8型 (SCA8)	608768	AD	? 13q21	非翻訳 RNA	(CTG) _n	16 ~ 34	74+
脊髄小脳失調症 12型 (SCA12)	604326	AD	PPP2R2B 5q32	プロモーター	(CAG) _n	7 ~ 45	55 ~ 78
ハンチントン病類縁疾患 2型(HDL2)	606438	AD	JPH3 16q24.3	さまざまにスプライシングを受けたエクソン	(CTG) _n	7 ~ 28	66 ~ 78

^a 遺伝形式は、X: X連鎖, AD: 常染色体優性, AR: 常染色体劣性。

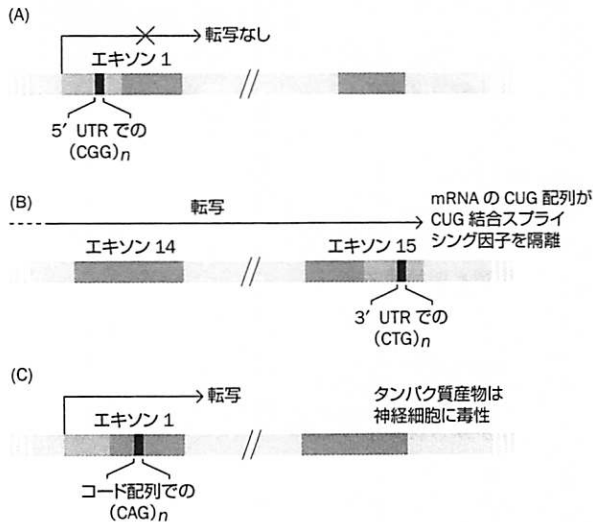


図 13.19 動的変異が病原性となる 3 つの機構
 (A) 脆弱 X 症候群では、遺伝子の 5' 非翻訳領域 (UTR) での伸長した反復配列が、プロモーターのメチル化の引き金となり転写を妨げる。(B) 筋強直性ジストロフィーでは、3' 非翻訳領域での伸長した反復配列が、転写産物 mRNA によるスプライシング因子の核内隔離を引き起こす、これにより、いくつかの関係ない遺伝子の正しいスプライシングが妨げられる。(C) ハンチントン病では、伸長した反復配列を含む遺伝子が健常者と同じように転写され翻訳されるが、タンパク質産物は毒性をもつ伸長ポリグルタミン鎖をもつ。伸長した反復配列は赤で、コード領域は濃い青で示す。

染色体上の *FRA16A* 脆弱部位は伸長した (CCG)_n 反復のためであるが、同じ染色体上の *FRA16B* は伸長した 33 bp のミニサテライトによって引き起こされる。

表 13.1 の疾患は、多くの点で多様である。異なる大きさの反復単位、さまざまな伸長程度、疾患遺伝子の異なる存在部位、および異なった発病機構が存在する。これらのなかでポリグルタミン病は明確な疾患群を構成し、なかでもハンチントン病 (HD; OMIM 143100) が代表的な表現型である。これらの病態では、ある遺伝子のコード配列における (CAG)_n 反復の中程度の伸長により、翻訳タンパク質に伸長したポリグルタミンの連続が生じる (図 13.19C)。これにより、細胞、特に神経細胞に毒性をもつ細胞内凝集体の形成が促進される (BOX 13.4)。その結果は、進行性遅発性の神経変性疾患となる。

コード領域外で遺伝子配列に影響し、はるかに長い伸長にかかわる動的変異もある。伸長した縦列反復配列は、プロモーター領域、5' または 3' 非翻訳領域、あるいはイントロンに存在しうる。通常、その影響でその遺伝子の発現が妨げられ (図 13.19A)、遺伝子機能の欠如から疾患が生じる。こうした状況では、同じ遺伝子の他の機能喪失変異によって同じ疾患が引き起こされる場合がある。筋強直性ジストロフィー 1 型 (DM1; OMIM 160900) では、発症機構はまったく異なる。この場合、毒性をもつ mRNA がかわる機能の獲得が起こる。*DMPK* 遺伝子の 3' 非翻訳領域において膨大に伸長した (CTG)_n の連なりのため、CUG 結合タンパク質を核内に隔離する mRNA が生産される。CUG 結合タンパク質は、無関係の複数遺伝子の一次転写産物を正しくスプライシングするのに必要であり、したがって、これらの遺伝

BOX 13.4 異常なタンパク質凝集により引き起こされる疾患

タンパク質凝集体の形成は、現在、さまざまな成人発症神経疾患に共通する特徴と考えられている。これらは、ハンチントン病が典型であるポリグルタミン病、アルツハイマー病、パーキンソン病、クロイツフェルト-ヤコブ病、およびアミロイドーシスとして知られている疾患群を含む。

球状タンパク質分子は油滴に類似し、内側に疎水性残基、外側に極性グループをもつ。正しい折りたたみが重要かつ非常に特異的な過程であり、すべての可能なポリペプチド配列から、一部は正しく折りたたむ能力においてタンパク質が選択され自然に生じたものである。変異タンパク質は、誤った折りたたみをより起こしやすいかもしれない。露出している疎水基をもつ折りたたみを誤った分子は、互いにあるいは他のタンパク質と凝集しやすく、これは細胞、特に神経細胞に何かしらの毒性を

もつ。ときには、構造変化がタンパク質分子の集団を通して伝播できるように見える。この際、おそらく結晶化と類似の過程で、安定した本来の構造から異なった特性をもつ構造に変換される。

クロイツフェルト-ヤコブ病などの疾患におけるプリオンタンパク質の動態は、最も印象的な例である。誤った折りたたみは、新たに合成された構造的に正常な分子の折りたたみの偶発的な誤り (散発例)、折りたたみをより誤りやすい傾向にする変異配列 (遺伝性疾患)、あるいはなんらかの形で環境から取り込まれた誤った折りたたみ分子 (感染例) から始まる可能性がある。これらの最終経路は共通しているため、1 つの症候群としてまとめられる。この話題は、Hardy & Orr が概説している (章末の「参考文献」参照)。

子はもはや正しく機能しない。その結果、DMPK 遺伝子産物であるタンパク質キナーゼは正常な量が産生されてはいるが、キナーゼの機能とは関係のない特徴を有する多臓器疾患となる。DMPK 遺伝子の他のどんな変異も筋強直性ジストロフィーの原因とはならないが、臨床的に非常によく似た疾患 (DM2: OMIM 116955) が、まったく関係ない ZNF9 遺伝子における (CCTG)_n 配列の大規模な伸長で引き起こされる場合がある。

動的反復配列で引き起こされた疾患の顕著な特徴は、“表現促進(anticipation)”である。すなわち、世代を重ねるにつれ発症年齢は低くなり、また反復数も増加するために、より重症になる。家系構成員にみられるようなバイアスにより、見かけの表現促進が生み出される可能性があることに関する注意点は、第3章を参照のこと。いくつかの場合、病原性効果の閾値より不安定性の閾値のほうが低い。これらの場合、非病原性だが不安定な中間長の前変異アレル (premutation allele) がみられ、子供に伝えられると容易に伸長して完全変異アレルとなる (例えば、脆弱 X 症候群における 50 ~ 200 単位の FRAXA 反復: OMIM 300624)。病原性閾値以下のアレルが非常にまれにしか伸長しない場合もある (例えば、29 ~ 35 反復をもつ HD アレル)。性別の影響がある場合もあり、一方の性の親 (HD では父親、筋強直性ジストロフィーでは母親) から引き継いだアレルにおもに大きな伸長がみられる。これらは、大きい伸長をもつ配偶子の生存率が異なることを反映しており、一方の性で伸長しやすいという固有の傾向ではない。

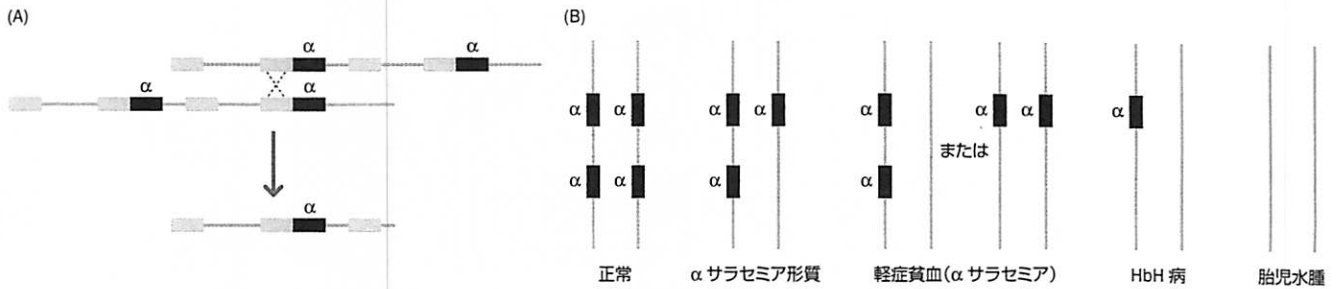
親子での反復長の比較は機械的には解釈しにくい。というのは、親の生殖細胞系において、体細胞分裂あるいは減数分裂での反復配列の不安定性を反映している場合や、あるいは大きな反復配列を伝える配偶子の能力を反映している場合があるからである。そのうえ、反復配列の大きさは、通常、末梢血リンパ球から抽出された DNA で研究されるが、体細胞分裂での不安定性があれば、リンパ球は精子や卵子、あるいは疾患病理学にかかわる組織とは非常に異なった反復長をもつ可能性がある。反復配列には体細胞では不安定なものもあり、血液 DNA を電気泳動で解析するとスミアになる。ほかの反復は、親子間では不安定だが体細胞分裂で安定なため、血液 DNA が親子で異なった位置に現れる 1 本の明瞭なバンドを示す。

13.3.4 1つ以上の遺伝子量に影響する配列多様体は病原性である可能性がある

染色体のトリソミーによってもたらされる重篤な表現型のため、遺伝子量の異常が潜在的に病原性であることは古くから認識されていた。しかし、少数の遺伝子しか量に敏感ではない。病態が劣性であるということは、問題の遺伝子に機能するコピーが1つしかなくても、ヘテロ接合体は表現型として正常であることを意味する。そのような遺伝子に関しては、明らかに量は重要ではない。外見的には健常人々の間で、遺伝子コピー数において豊富で大規模な多様性があるという最近の発見は、コピー数におけるすべての多型が有害であるということではないという主張を裏づける。

染色体のトリソミーがもつ独特の表現型は、おそらく量に敏感なわずかの遺伝子に負っている。例えば、ダウン症候群の特徴的な容貌は、おもにただ2つの遺伝子、DSCR1 と DYRK1A の量的効果によると考えられる。多くの遺伝子は、1.5 倍量より2分の1量で表現型効果を生み出すと予想される。したがって、ヒト発生においては、全染色体の大規模な欠損やモノソミーのほうが染色体重複やトリソミーより許容されにくい。

遺伝子量における変化を生み出す1つの一般的な機構は、非アレル間相同組換え (non-allelic homologous recombination: NAHR) である。ゲノムの部分重複領域 (95%



以上の配列同一性をもつ1 kb以上の長さの配列、としばしば定義される)は、相同染色体が減数分裂時に対になる際、誤って整列する可能性がある。その際にNAHRは欠失や重複を生み出す。誤って並んだ反復配列は、同じ配列をもつが同じ染色体位置ではないため、組換えは相同であるが配列はアレルどうしではない。ふつうの健全な人々にみられる、多くの(しかし決してすべてではない)病原性とはならない一般的なコピー数多様性がこの機構で発生する。 α サラセミアは、サラセミア病原性の遺伝子量多様性を生み出すNAHRの好例を提供する。ほとんどの人々は、古代の縦列重複の結果として、 α グロビン遺伝子を4コピーもつ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$)。図13.20に示すように、 α グロビン遺伝子に隣接するコピー数の少ない反復配列間のNAHRにより、より多くの、あるいはより少ない α グロビン遺伝子をもつ染色体を生産しうる。 α グロビン遺伝子コピー数の減少は、引き続いてより重篤な影響を生み出す。3コピーをもっている人($\alpha\alpha/\alpha-$)は健全である。2コピーの人($\alpha/\alpha-$ 、あるいは $\alpha\alpha/--$)は軽症の α サラセミアに罹患する。1つしか遺伝子をもたない人($\alpha/--$)は重篤な疾患をもつ。さらにすべての α 遺伝子を欠損($--/--$)すると致死的な胎児水腫(胎児への液体貯留)を引き起こす。

X染色体のモノソミーとトリソミーは特に興味深い、X染色体不活性化(細胞内でX染色体を1つを除きすべて不活性化。第3章を参照)により、モノソミーとトリソミーが体細胞組織で無症候性になるからである。ただし、第11章で指摘したように、X染色体上の驚くほど多くの遺伝子が不活性化を逃れる。これらにはY染色体上に対応遺伝子をもっているものもあるが、大部分はもっていない。X不活性化を逃れるがY染色体に対応遺伝子をもたない遺伝子群を、健全女性は機能的な2コピー有し、男性は1つのみをもつ。ターナー(45,X)女性は、健全男性と同じくただ1つの活性コピーをもつわけだが、女性発生の過程ではおそらく単一コピーでは十分でない。ターナー症候群の骨格異常は、*SHOX*のハプロ不全(正常遺伝子産物の50%では正常表現型を生み出すには不十分)によって引き起こされる。*SHOX*はXp/Yp擬似常染色体領域に位置しているホメオボックス遺伝子であるので、男性と健全女性の両方で2コピー存在している。

単一遺伝子レベルよりは大きいが従来の細胞遺伝学的観察では判定できない程度のコピー数の病原性となる多様性は、微小欠失あるいは微小重複として分類される(表13.2)。これらのうち、3つの異なった分子病理が区別される。

- 単一遺伝子症候群(single gene syndrome)では、表現型に与える影響はすべて単一遺伝子の欠失(あるいは、ときには重複)による。例えば、アラジル症候群(OMIM 118450)は、20p11に微小欠失をもつ症例にみられる。しかし、アラジル症候群の患者の93%は欠失をまったくもたず、代わりに20p12に位置する*JAG1*遺伝子の点変異がヘテロ接合となっている。すべての症例が、*JAG1*遺伝子産物が半量であることに起因する。
- 隣接遺伝子症候群(contiguous gene syndrome)は、主としてX染色体欠失男性にみられる(図13.21A)。古典的な症例は、デュシェンヌ型筋ジストロフィー

図13.20 α サラセミアにおける α グロビン遺伝子の欠失

(A) 16番染色体の正常コピーは、それぞれ縦列に配置された2つの α グロビン遺伝子(赤色)を含む。遺伝子の両端にある反復配列集団(灰色と薄茶色で示す)は、整列を誤り不等交差を起こす可能性がある。図に、活性をもつ α 遺伝子を1つだけ含む染色体を作り出すような、誤った整列による組換えの1つを示す。他の反復配列との間の不等交差(図示していない)は、機能的な α 遺伝子をもたない染色体を作りうる。したがって、個人の α グロビン遺伝子の数はゼロから4以上と多様である可能性がある。(B) 遺伝子数が減少するのに従って、結果はより重篤となる。詳細はWeatherall et al. (章末の「参考文献」)を参照。

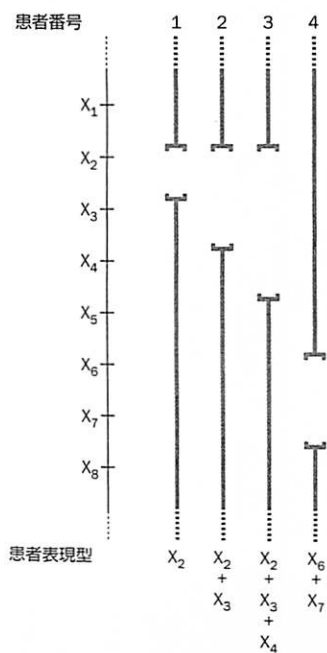
表 13.2 染色体の微小欠失が関連する症候群の例

症候群	OMIM 番号	部位	遺伝子異常の型
ヴォルフ-ヒルシュホルン症候群	194190	4pter	部分異数体
5p- (ネコ鳴き) 症候群	123450	5pter	部分異数体
ウィリアムズ-ボイレン症候群	194050	7q11.23	部分異数体
ランガー-ギーティオン症候群	150230	8q24	隣接遺伝子 (<i>TRPS1, EXT1</i>)
WAGR 症候群	194072	11p13	隣接遺伝子 (<i>PAX6, WT1</i>)
ブラダー-ウィリー症候群	176270	15q11-q13	部分異数体 (父親由来コピーの欠如)
アンジェルマン症候群	105830	15q11-q13	単一遺伝子 (母親由来 <i>UBE3A</i> の欠如)
ルビンスタイン-テイビ症候群	180849	16p13.3	単一遺伝子 (<i>CBP</i> の量)
ミラー-ディーカー滑脳症候群	247200	17pter	隣接遺伝子 (<i>LIS1</i> など)
スミス-マグニス症候群	182290	17p11.2	部分異数体
アラジル症候群 1 型	118450	20p12	単一遺伝子 (<i>JAG1</i> の量)
ディジョージ症候群 / VCF5	188400/192430	22q11.21	部分異数体

単一遺伝子の機能的コピーを1つしかもっていないことによって引き起こされるこれらの症候群は、その遺伝子に微小欠失ではなく点変異を有する患者にもしばしばみられる。WAGR: ウィルムス腫瘍・無虹彩・性器異常・精神遅滞, VCF5: 口蓋心顔面症候群。

(DMD; OMIM 310200), 慢性肉芽腫症 (CGD; OMIM 306400), および網膜色素変性症 (OMIM 312600) を精神遅滞とともに有する少年 BB であった。本症例では、Xp21 に、隣接する遺伝子群の欠失を含む染色体欠失をもっていた。そして、この欠失が、患者の2疾患、DMD および CGD を引き起こした遺伝子をクローニングする手段を偶然、研究者に提供することになった。Xp 先端の欠失は、別の一連の隣接遺伝子症候群でみられる。連続するさらに大規模な欠失はより多くの遺伝子を取り除き、より多くの疾患を症候群に加える。微小欠失は、X 染色体の (Xp21 や近位 Xq など) いくつかの箇所では比較的頻繁にみられるが、(Xp22.1-22.2 や Xq28 など) 他の部位ではまれであるか、知られていない。特定の個々の遺伝子の欠失、および遺伝子が豊富な領域での目に見える欠

(A) X 染色体地図



(B) 常染色体地図

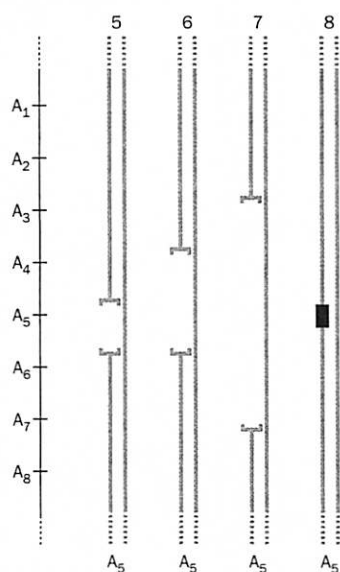


図 13.21 X 染色体連鎖微小欠失症候群および常染色体微小欠失症候群

(A) 男性患者 1~3 は、X 染色体上に入れ子になった一連の隣接遺伝子症候群を示しているが、患者 4 は異なる隣接遺伝子症候群をもつ。遺伝子 X₁ あるいは X₅ の欠失は、男性で致死となる。(B) 常染色体では、隣接遺伝子症候群は対となるもう一方の染色体による相殺効果のためまれである。この例では、遺伝子 A₅ のみ遺伝子量感受性である。患者 5~7 は、すべて遺伝子 A₅ を取り囲む異なる長さの欠失をもち、全員患者 8 と同じ表現型を示す。患者 8 は A₅ 遺伝子の機能喪失点変異に関してヘテロ接合である。

失は、間違いなく致死적であろう。同様の隣接遺伝子症候群は、常染色体では釣り合いをとっている正常染色体が存在するため、X染色体にみられるよりずっと頻度は低い(図 13.21B)。ランガー-ギーディオン症候群(毛髪鼻指節症候群 2型; OMIM 150230)はまれな例である。

- **部分異数性症候群 (segmental aneuploidy syndrome)** は、隣接遺伝子症候群の特殊型で、よく認識された表現型で定期的に再発する。例には、ウィリアムズ-ボイレック症候群 (OMIM 194050)、ブラダー-ウィリー症候群 (OMIM 176270)、アンジェルマン症候群 (OMIM 105830)、スミス-マゲニス症候群 (OMIM 182290)、およびディジョージ/口蓋心顔面 (OMIM 188400/192430) 症候群が含まれる(表 13.2 参照)。これらの症候群はすべて、問題領域に隣接するコピー数の少ない反復配列の間で、NAHRによる欠失を生み出す。また、病原性ではないかもしれないが、NAHRはこれらの領域の重複を生み出すこともある。ブラダー-ウィリー症候群とアンジェルマン症候群の例(図 11.20 参照, p. 421)は、たまたま刷り込み領域がかかわり、表現型が複雑になっているが、同じ機構により上述の別の症候群が発生している。他の隣接遺伝子症候群のように、通常、表現型は2つ以上の遺伝子の量的効果に依存しており、ただ1つの遺伝子に点変異をもつ人々にはみられない。ウィリアムズ-ボイレック症候群は典型的である。患者は、染色体7q11.23にある約20遺伝子を取り去る1.5 Mbの欠失領域でヘテロ接合となっている。短い欠失をもつ症例が複数報告されているが、1遺伝子のみ欠失あるいは変異をもつ典型例はみだされていない。

よくみられる他の症候群は、独立した無作為染色体末端欠失で発生するが、その部位のテロメア近傍に遺伝子量感受性遺伝子が位置している。例えば、ヴォルフ-ヒルシュホルン症候群 (OMIM 194190) と 5p-症候群 (OMIM 123450) がある。ミラー-ディーカー滑脳症候群 (OMIM 247200) では、17pの無作為末端欠失により1つ以上の遺伝子量感受性遺伝子を取り除くことで隣接欠失症候群を発生させる。

13.4 分子病理学：配列多様体の影響を理解する

遺伝カウンセリングと家系分析において、通常、アレルは単純にAおよびaと記載され、大文字は優性アレルを表す。これは、それらの目的には適正な記載である。しかしながら、分子病理学のためにはより詳細にみる必要がある。嚢胞性線維症保因者の遺伝型をAaと記載する場合、aの意味するものは変異のため有効に機能する塩素チャネルを産生しないすべてのCFTR遺伝子である。1500以上のそのようなアレルが報告されている。同様にAは、十分に機能し疾患を引き起こさないすべての配列を意味する。それは理想的に機能的である必要はなく、明白な問題を避けることができればよい。血縁のない人々にみられるAアレルの実際のDNA配列は、必ずしも100%同一ではないであろう。

13.4.1 機能の喪失変化と獲得変化の間に、分子病理学における最大の違いがある

分子病理学で重要なのは、変異アレルの配列ではなくその効果である。変異アレルの配列を知ることは遺伝学的検査には重要であるが、分子病理学のためには、その変異アレルが何をするか、またはしないかを知る必要がある。変異遺伝子は生物にあらゆる微妙な影響を及ぼす可能性をもつが、重要な第1の疑問は、機能の喪失や獲得を生み出すかどうかである。

- **機能喪失変異 (loss-of-function mutation)** では、遺伝子産物は減少しているか機能をもたない。

● 機能獲得変異 (gain-of-function mutation) では、遺伝子産物は過剰な作用をする。

必然的に、機能の喪失か獲得のどちらかとして容易に分類できない変異がある。恒常的に開放しているイオンチャンネルは、閉鎖機能を失ったのだろうか、あるいは不適切に開放する機能を獲得したのだろうか。ヘテロ接合体において残存正常アレルの機能を妨げる変異遺伝子産物は、正常機能を失うと同時に新しい有害機能を獲得している。また、1つの変異が、遺伝子のいくつかの異なる機能や産物の均衡を変える可能性もある。それにもかかわらず、機能喪失と機能獲得の区別は、分子病理学について考えるために不可欠な最初の手段である。

遺伝形式は、基盤となる分子病理学の手がかりを提供する。機能獲得があれば、正常アレルの存在が変異アレルの異常なふるまいを防ぐことはないはずである。ヘテロ接合の人に異常機能がみられれば、表現型は優性であると予想される。例えば、ハンチントン病と筋強直性ジストロフィーはいずれも優性である。一方、機能喪失表現型の現れ方はそれほど明確ではない。ほとんどの遺伝子産物には、正確な量は重要ではなく、正常量の半分でやりくりできる。したがって、ほとんどの機能喪失変異が劣性表現型を生み出す。例えば、ほとんどの先天性代謝異常は劣性である。ところが、以下で説明するようにハプロ不全か優性ネガティブ効果があれば、機能喪失変異による病態は優性となる可能性がある。

13.4.2 アレル異質性は、機能喪失表現型に共通の特徴である

遺伝子産物の機能を減弱させたり失わせたりする多くの仕組みがある。臨床表現型が遺伝子の機能喪失から生じるとき、遺伝子産物を不活性にするあらゆる変化は同じ臨床効果をもたらすと予想できる。対照的に、機能の獲得はかなり特異的な現象である。おそらく、遺伝子の非常に特異的な変化だけが、その機能獲得を引き起こしうる。したがって、アレル異質性 (allelic heterogeneity) の程度は、絶対確実ではないが根拠となる分子病理学へのもう1つの指針となる。例えば、不安定な三塩基反復配列で引き起こされる疾患 (表 13.1 参照) のうち、脆弱 X 症候群 (OMIM 300624) とフリードライヒ失調症 (OMIM 229300) は、ときにそれぞれの該当遺伝子における他の種類の変異によって引き起こされることもあり、機能喪失を暗示している。一方、ハンチントン病と筋強直性ジストロフィーは他の種類の変異ではけっしてみられず、機能獲得を示唆する。

臨床表現型が遺伝子の機能喪失から生じるとき、遺伝子の欠失あるいは分断と同じ効果をもっている点変異をみつけることができるはずである。例えば、染色体 11q23 上の毛細血管拡張性運動失調症変異 (ataxia-telangiectasia mutated : ATM) 遺伝子は、DNA 損傷の検出にかかわる 3056 アミノ酸からなる ATM タンパク質をコードする。損傷が検出されると、ATM は下流タンパク質をリン酸化することにより、修復過程が稼働し始める。毛細血管拡張性運動失調症に罹患した患者は、DNA 損

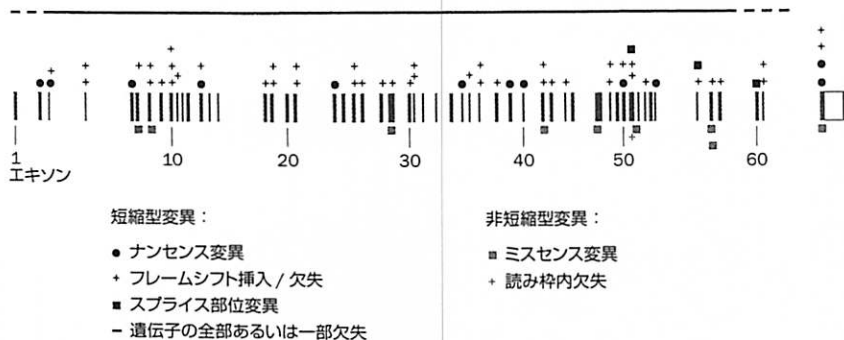


図 13.22 毛細血管拡張性運動失調症患者における ATM 遺伝子の変異分布
多様な、大部分は遺伝子産物の短縮につながる多くの変異があることから、この劣性疾患は ATM 遺伝子の機能喪失で引き起こされることが示唆される。[Li A & Swift M (2000) *Am. J. Med. Genet.* 92, 170-177 に報告されたデータ。Wiley-Liss, Inc. (John Wiley & Sons, Inc. 傘下) および Ensembl and OMIM の許可を得て掲載]

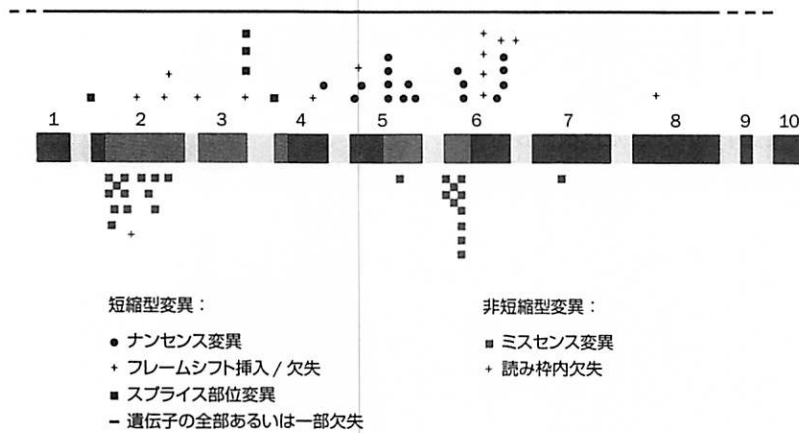


図 13.23 ワールデンブルグ症候群 1 型患者にみられる PAX3 遺伝子の機能喪失変異

図 13.21 にある ATM 遺伝子のデータと同様、多彩な短縮型変異と非短縮型変異の両方がみられる。ミスセンス変化は、PAX3 タンパク質の主要な機能的 DNA 結合ドメインをコードする 2 つの色をつけた領域 (薄赤色は対になったドメイン、緑色はホメオドメイン) に集中している。疾患は優性であるが、図のデータは原因が PAX3 遺伝子の機能喪失に間違いのないことを示している。したがって、これはハプロ不全の一例である。

傷の修復が不十分である。患者ごとに多様な ATM 遺伝子変異を示し、大部分は小さなフレームシフト挿入か欠失であるが、ナンセンス変異やスプライス部位変異、ミスセンス変異、およびときには大規模な欠失もみられる (図 13.22)。明らかに、毛細血管拡張性運動失調症の原因は、ATM 遺伝子 2 コピーの機能喪失である。

13.4.3 機能喪失変異は、ハプロ不全があるとき優性表現型を生み出す

前述のように、ほとんどの遺伝子産物では正確な量は重要ではない。ほとんどの機能喪失変異が劣性表現型をもたらす、これは機能遺伝子を 1 コピーしかもたない人でも正常な表現型になることを意味する。ところがある場合には、正常に対して 50% の発現量は正常機能にとって十分ではない。機能喪失変異についてヘテロ接合の人は、そのため優性形質として引き継がれる表現型を示す。これはハプロ不全 (haploinsufficiency) と呼ばれる。ワールデンブルグ症候群 1 型 (OMIM 193500: 聴力障害と色素異常) はその一例である。図 13.23 に示すように、PAX3 遺伝子における病因変異は、アミノ酸置換、フレームシフト、スプライシング変異、および症例によっては遺伝子の完全欠失を含む。これらのすべての出来事が同じ臨床効果をもたらすため、疾患原因が PAX3 機能の喪失であることは間違いのない。それにもかかわらずワールデンブルグ症候群は優性であるので、これはハプロ不全の一例である。表 13.3 にそれ以外の例を一覧で示す。

なぜある遺伝子産物にはハプロ不全があるのか、と疑問に思うのは当然だろう。自然選択は、なぜものごとをより上手に管理しないのだろうか。もしある遺伝子が、2 コピーで必要最低限だけの産物量を作るように発現されるとすると、より多量の発現を示す配列多様体を選択されることにより、明らかな対価を支払うことなしに、より頑健な生物への進化につながるはずである。その回答は、多くの場合には、そ

表 13.3 ハプロ不全によって引き起こされている可能性の高い表現型の例

病態	OMIM 番号	遺伝子 ^a
アラジル症候群 1 型	118450	JAG1
多発性外骨症 1 型	133700	EXT1
ソーセイジ様ニューロパチー	162500	PMP22
大動脈弁上狭窄症	185500	ELN
毛髪鼻指節症候群 1 型	190350	TRPS1

^a 単一の機能性アレルの産物では正常機能や発生に不十分であるため、単一の機能喪失アレルをもつ個体が影響を受ける。

れが実際に起こり、その結果、遺伝子量感受性遺伝子として存在しているものは現在わずかしかないということである。機能的な遺伝子を1コピーだけもっている細胞が、大量に必要とされる遺伝子産物の需要に応えられないという状況がいくつかある。1つの例はエラスチンであろう。エラスチン遺伝子の欠失または機能喪失変異についてヘテロ接合の人では、少量のエラスチンのみを必要とする組織(例えば皮膚や肺)は影響を受けないが、ずっと多量のエラスチンが要求される大動脈はしばしば大動脈弁上狭窄症(OMIM 185500)という異常を示す。しかしながら、特定の遺伝子機能は本来遺伝子量感受性である。これらには以下のものが含まれる。

- 受容体あるいはDNA結合部位を部分的あるいは可変的に占有することで機能を発揮する、定量的シグナル機構の一部である遺伝子産物。
- 発生において、あるいは代謝のスイッチを決定するうえで、互いに競合する遺伝子産物。
- 化学量論の通りに相互作用して機能する遺伝子産物(α および β グロビンあるいは多くの構造タンパク質)。

いずれの場合も遺伝子産物は、そのつど細胞内で他の何かに合わせて産生される。重要なことは産物の正確な絶対量ではなく、相互作用する物質の正確な相対量である。その効果は、すべての相互作用物質において変化に鋭敏である。したがって、これらの優性な状態はしばしば非常に多様な表現を示す。多くの可溶性代謝酵素のように、基本的に単独で作用する産物では、量的効果はめったにみられない。

13.4.4 変異遺伝子産物が正常産物の機能を妨げるとき、優性ネガティブ効果が起こる

機能喪失変異に優性表現型を生み出すものがあるもう1つの理由は、優性ネガティブ効果(dominant-negative effect)である。優性ネガティブ効果はヘテロ接合体だけでみられ、ヘテロ接合体が、同じ遺伝子の単純なヌルアレルより重篤な影響を引き起こす。ある遺伝子のヌル変異についてヘテロ接合の人は、正常に機能するアレルをほかに1つもっているため、正常機能の50%のレベルを保っているはずである。しかし、変異アレルの産物がそれ自体機能しないだけでなく、残る正常なアレルの機能も妨げる場合、残存機能は50%未満になるであろう。ナンセンス変異介在性分解(p. 484参照)の機構は、おそらく異常な短縮タンパク質がもたらす優性ネガティブ効果を回避する目的で発展した。変異遺伝子からの産物がまったくないのは、異常産物があるよりよいかもしれない。多量体構造を構築するタンパク質は、特に優性ネガティブ効果の影響を受けやすい。コラーゲンはその古典的な例である。

線維状コラーゲンは結合組織の主要な構造タンパク質であり、ポリペプチド鎖の三重らせんからなり、ときにホモ三量体、ときにヘテロ三量体といった、密に並んで架橋された強固な線維を形成するように組み立てられる。新たに合成されたポリペプチド鎖(プレプロコラーゲン)では、N末端とC末端のプロペプチドが規則正しい反復配列(Gly-X-Y)_nの両端にある(ここで、XとYは可変アミノ酸で、少なくともその1つは通常プロリン)。3つのプレプロコラーゲン鎖が会合し、C末端プロペプチドの制御下に巻きついて三重らせんとなる。三重らせん構築後に、N末端とC末端プロペプチドは切断される。グリシンを他のアミノ酸に置き換える変異は、三重らせんの緊密な充填を妨害するため通常強い優性ネガティブ効果をもつ。I型コラーゲンにおけるミスセンス変異は、この優性ネガティブ効果のため脆弱骨疾患の最重症型(骨形成不全症IIA型; OMIM 166210)の原因となる。ヘテロ接合体では、変異コラーゲンポリペプチドは正常鎖と会合はしても、三重らせんの構築を妨害する。これにより機能的コラーゲンの産生を、50%をはるかに下回るほど減少させる。

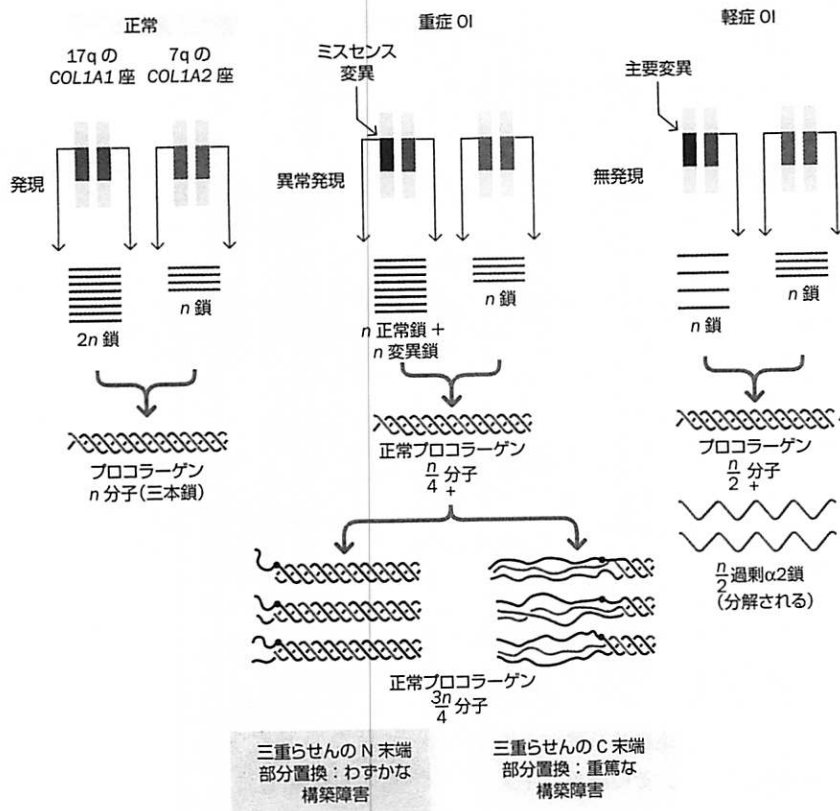


図 13.24 コラーゲン遺伝子変異の優性ネガティブ効果

コラーゲン線維は、三重らせん状プロコラーゲン単位が架橋してできている。I 型プロコラーゲンは、COL1A1 遺伝子によってコードされた 2 本の鎖と COL1A2 によってコードされた 1 本の鎖からなる。三重らせんの各ポリペプチド鎖は、繰り返し単位 (Gly-X-Y)_n からなる。骨形成不全症 IIA 型 (osteogenesis imperfecta type IIA : OI ; OMIM 166210) では、グリシンを他のアミノ酸のどれかに置き換える変異が、ポリペプチド鎖の充填を妨害するため、通常強い優性ネガティブ効果をもつ。らせん構造は C 末端から組み立てが始まるので、C 末端近くのグリシンの置換は、N 末端近くの置換に比べてさらに重篤な効果をもつ。どちらかの遺伝子におけるヌル変異では、量はわずかでもそれ以外は正常の三重らせんが形成されるので (単純なハプロ不全)、より軽症の臨床表現型をもたらす。

る。同じ遺伝子におけるヌル変異は、より重篤な影響を生み出すと予想されるかもしれないが、実際にはより軽症型の疾患となる。コラーゲンの単純な欠損は、異常鎖の存在ほど破滅的とはならない (図 13.24)。

二量体あるいはオリゴマーを形成する非構造タンパク質もまた、優性ネガティブ効果を示す。例えば bHLH-Zip ファミリーの転写調節因子は、二量体として DNA と結合する。二量体を作れない変異はしばしば劣性表現型の原因となるが、機能している分子を不活性な二量体として使えなくする変異は優性表現型をもたらす。細胞膜中のイオンチャネルは、優性ネガティブ効果を起こしやすい多量体構造の別の例である。コネキシン 26 はその一例で、コネキシン 26 タンパク質の 6 つの分子が会合してコネクソン (ギャップ結合の半分) を形成し、細胞間で小さいイオンを移動させる。図 13.15 に、コネキシン 26 をコードする遺伝子におけるヌル変異の例を示した。この変異のホモ接合の人は、コネキシン 26 を作り出せず、内耳で機能しているギャップ結合を欠いて、本来循環するべきカリウムイオンが再循環できないため聴覚損失となる。ヘテロ接合体は、表現型上完全に健常である (聴覚損失の子供をもつリスクを負っているカップルを特定したい場合は、このことが問題になる)。しかし、あるミスセンス変異があると、構造的に異常なコネキシン 26 分子が生産される。これらの分子は、たとえコネキシン分子の 6 個のうちいくつかは正常であってもコネクソンの機能を損なう。ヘテロ接合体は聴力を失い、表現型は優性となる。

13.4.5 機能獲得変異は、遺伝子やその産物が調節シグナルに反応する機構にしばしば影響する

ある変異が遺伝子産物に根本的に新しい機能を与えることは考えにくい。新規の

表 13.4 機能獲得変異の機構

機能異常	遺伝子	OMIM 番号	疾患	コメント
過剰発現	<i>NROB1</i>	300018	雄から雌への性転換	遺伝子重複が過剰発現と性転換を引き起こす
新しい基質の獲得	<i>PI</i> (ピッツバーグアレル)	107400	致死的な出血異常	α_1 アンチトリプシン遺伝子のまれな機能獲得アレル(図 13.25)
不適切なイオンチャネル開放	<i>SCN4A</i>	168300	フォン・オイレンブルクの先天性パラミオトニア	ナトリウムチャネル遺伝子の特異的変異により閉鎖が遅れる
タンパク質凝集	<i>HD</i>	143100	ハンチントン病	伸長したポリグルタミン鎖をもつタンパク質が毒性のある凝集塊を形成
受容体の恒常的活性化	<i>GNAS1</i>	174800	マッキューン-オールブライト症候群	体細胞変異のみ。構成的活性化型はおそらく致死的
キメラ遺伝子	<i>BCR-ABL</i>	151410	慢性骨髄性白血病	体細胞変異のみ

機能獲得を確かにもたらす唯一の機構は、染色体再編成の際、2つの異なる遺伝子のエクソンを結合することによって新しいキメラ遺伝子を作り出す場合である。この種のエクソンシャッフリングは進化にとって重要であるが、遺伝性疾患では重要でない。こうしたキメラ遺伝子を生み出す染色体転座や逆位は、各染色体が独立して分配される細胞分裂を通して次々と伝播される。ところが減数分裂では、相同染色体どうしが対になり組換えを起こす。第2章でみたように、染色体再編成をもつ個体を作る接合子では染色体の複雑な対合が起こり、結果として染色体分離がうまくいかない。場合によっては、組換えにより重複や欠失が生じる。その結果、キメラ遺伝子は、体細胞分裂だけに依存している腫瘍(多くの例を第17章で説明する)でしばしばみられるが、遺伝性の病態ではみられない。遺伝性疾患では、キメラ遺伝子は減数分裂を経験しなければならない。進化的に成功した例は、このまれな例外であるに違いない。

根本的に新しい機能を作り出しはしないが、ほとんどの機能獲得変異は遺伝子やその産物が調節シグナルに反応する機構に影響する。変異遺伝子やその産物は、抑制性調節シグナルに反応することができない可能性がある。変異遺伝子は、不適切なときに、不適切な組織で、不適切な量で、あるいは不適切なシグナルに対応して発現されるかもしれない。変異産物は、他の細胞成分と異常かつ病原性の相互作用を示すかもしれない。表 13.4 に、遺伝子産物が機能獲得を示すようになる方法をいくつか例示する。タンパク質に新しい機能を与えるまれな遺伝性点変異の例は、*PI* 座位のピッツバーグアレル (OMIM 107400, 図 13.25) である。活性部位のアミノ酸1つの置換は、エラスターゼ阻害因子を恒常的に活性のある新規のトロンピン阻害因子に変換し、致死的な出血性疾患をきたす。

G タンパク質共役ホルモン受容体の機能獲得によって引き起こされる疾患

G タンパク質共役ホルモン受容体は、活性化変異の好例を示す。多くのホルモンは、膜貫通型受容体の細胞外ドメインに結合することによって標的細胞にその効果を生じる。受容体へのリガンドの結合により、受容体の細胞質尾部は不活性(GDP結合)型 G タンパク質から活性(GTP結合)型への変換を促進する。そしてイオンチャネルやアデニル酸シクラーゼなどの酵素を刺激することにより、そのシグナルを先へと伝達する。変異受容体には、構成的に活性化されているものもある。すなわち、それらはリガンドがなくても発火する(下流のエフェクター分子にシグナルを送る)。

- 家族性男性思春期早発症 (OMIM 176410: 罹患者では4歳までに思春期が開始) では、黄体形成ホルモン受容体の構成的な活性化がみられる。

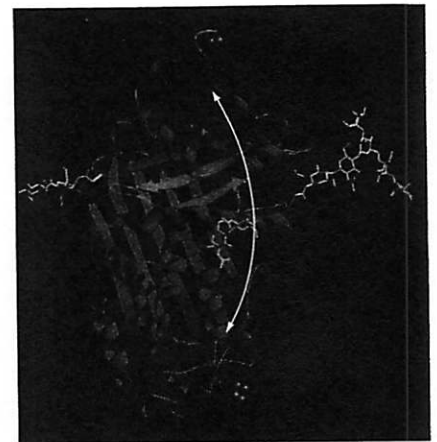


図 13.25 α_1 アンチトリプシン分子が新しい機能を獲得する原因となる変異

α_1 アンチトリプシンは、特定のプロテアーゼの不活性化因子である。そのプロテアーゼは、 α_1 アンチトリプシン分子中の 358 と 359 残基間のペプチド結合を開裂させる。その結果、図に矢印で示すように 2つの残基(緑色の球として表示)が 65 Å 離れる。構造変化により、プロテアーゼは捕らえられ不活性化される。野生型アレルでは、358 と 359 残基はそれぞれメチオニンとセリンである。これはエラスターゼの基質となる。したがって、野生型 α_1 アンチトリプシンはエラスターゼ阻害因子として機能する。ピッツバーグアレルでは、ミスセンス変異 p.M358R がメチオニンをアルギニンに置き換える。タンパク質構造、および 358 と 359 残基間のペプチド結合開裂の影響は変化しないが、特異性はエラスターゼよりむしろトロンピン特異的となる。したがって、ピッツバーグアレルはエラスターゼ阻害活性をまったくもたないが、強力なトロンピン阻害因子となる。結果として致死的な出血異常をきたす。赤色と青色は、 α_1 アンチトリプシン分子 N 末端の一部と切断部位の C 末端を示す。糖鎖残基は灰色で示してある。[University of Geneva exPASy molecular biology Web server, <http://www.expasy.ch/> の画像 S3D00427 より]

- 常染色体優性甲状腺過形成は、甲状腺刺激ホルモン受容体の活性化変異によって引き起こされる場合がある (OMIM 275200 参照)。
- 骨異常であるジャンセン型骨幹端異形成症 (OMIM 156400) は、副甲状腺ホルモン受容体の構成的な活性化によって引き起こされる場合がある。

13.4.6 アレルの均質性は、必ずしも機能獲得が原因ではない

アレル異質性は通常、機能喪失表現型の顕著な特徴であると上述した。しかし、アレルの均質性を示しているすべての状態が機能獲得によって引き起こされると考えるのは正しくない。ほかに考えられる解釈がある。

- ある疾患では、表現型は遺伝的变化のはるか下流でみられるというよりは、むしろ遺伝子産物自体に直接関連する。その場合、鎌状赤血球貧血のように、疾患は特定の配列多様体の産物で定義される可能性がある。
- ある遺伝子において、なんらかの特定の分子機構が、他のいかなる変化よりもはるかに高い確率で特定の配列変化を起こすかもしれない。例として、脆弱 X 症候群における (CGG)_n 伸長がある。
- 創始者効果 (founder effect) があるかもしれない。例えば、特定の疾患変異はアシュケナージ系ユダヤ人では一般的である。現代のアシュケナージ系ユダヤ人は、かなり少ない数の創始者の血を引いている。それらの創始者の 1 人が劣性アレルを運んだとすれば、それは現在のアシュケナージ系集団において高頻度でみられる可能性がある。
- ヘテロ接合体を嗜好する選択は創始者効果を増強し、ある集団で少数の特異的変異がしばしば一般的となる結果をもたらす。

13.4.7 同じ遺伝子における機能喪失変異と機能獲得変異は異なった表現型をもたらす

分子病理学に関するこの章は、機能喪失変異と機能獲得変異の区別を強調するところから始まった。ただし、同じ遺伝子に両種の変異をみることもある。これが起こるとき、結果として生じる表現型はしばしば非常に異なったものになる。

上述のように、*PAX3* 遺伝子における機能喪失変異は、発生異常であるワールデンブルグ症候群 1 型をきたす (図 13.23 参照)。後天的な染色体転座により、体細胞内でもう 1 つの転写因子遺伝子 *FKHR* と *PAX3* とが融合して新規キメラ遺伝子を生じると、完全に異なる表現型がみられる。この融合転写因子の機能獲得は、胞状横紋筋肉腫 (OMIM 268220) という腫瘍の発症を引き起こす。

別の顕著な例は、*RET* 遺伝子に関するものである。*RET* は、膜貫通型受容体チロシンキナーゼをコードする。リガンド (グリア細胞由来神経栄養因子 [GDNF]) の細胞外ドメインへの結合は、受容体の二量体化を引き起こす。この結合は、その受容体の細胞質ドメインでチロシンキナーゼモジュールを活性化し、受容体は細胞内にシグナルを送る (図 4.15 参照, p. 125)。*RET* 遺伝子におけるさまざまな機能喪失変異は、ヒルシュスプルング病 (OMIM 142623: 腸管神経節の欠損) の原因の 1 つである。これらには、フレームシフト、ナンセンス変異、およびアミノ酸置換が含まれ、*RET* タンパク質の翻訳後修飾が妨げられる。*RET* 遺伝子におけるある特定のミスセンス変異は、まったく異なる疾患群である家族性甲状腺髄様がん (OMIM 155240) と、それに関連しさらに多臓器にわたる多発性内分泌腫瘍 2 型 (OMIM 162300 と 171400) でみられる。これらは、リガンドに過剰に反応する受容体分子、あるいは構成的に活性化しており、リガンドがなくても二量体化する受容体分子を

表 13.5 機能喪失変異と機能獲得変異が異なった疾患を引き起こす遺伝子の例

遺伝子	部位	喪失(-)あるいは獲得(+)	疾患	略号	OMIM 番号
PAX3	2q35	-	ワールデンブルグ症候群 1 型	WS1	193500
		+	胞状横紋筋肉腫	RMS2	268220
RET	10q11.2	+	多発性内分泌腫瘍 2A 型	MEN2A	171400
		+	多発性内分泌腫瘍 2B 型	MEN2B	162300
		+	家族性甲状腺髄様がん	FMTTC	155240
		-	ヒルシュスブルグ病	HSCR	142623
PMP22	17p11.2	-	シャルコー-マリー-トゥース病 1A 型	CMT1A	118220
		+	ソーセージ様ニューロパチー	HNPP	162500
GNAS1	20q13.2	-	オールブライト遺伝性骨異常症	PHP1A	103580
		+	マッキューン-オールブライト症候群	MAS	174800
AR	Xq12	-	精巢性女性化症候群	TFM	300068
		+	球脊髄性筋萎縮症	SBMA	313200

産生する機能獲得変異による。奇妙なことに、受容体二量体化に重要なシステイン 618 あるいは 620 に影響するミスセンス変異をもつ人々は、甲状腺がんとヒルシュスブルグ病の両方に罹患する。これは機能の喪失と獲得を同時に起こしたことを意味しており、機能の喪失と獲得が必ずしも単純に加算減算できるような量ではないことを思い出させる。変異は、遺伝子が発現される細胞の種類によってそれぞれで異なった効果を示す可能性がある。

表 13.5 に、単一遺伝子における機能喪失変異および機能獲得変異が異なる疾患を引き起こすいくつかの例を一覧する。通常、機能獲得変異は、質的に異常なタンパク質を作り出す、単純な量的効果はときに両方向に病原性となる場合がある。つまり、遺伝子量の増加および減少はいずれも病原性となるが、それぞれ異なった疾患を引き起こす。末梢ミエリタンパク質遺伝子 *PMP22* は 1 つの例である。染色体 17p11 の反復配列間の不等交差により、*PMP22* 遺伝子を含む 1.5 Mb 領域の重複あるいは欠失が起こる(図 13.26)。欠失あるいは重複のヘテロ接合保有者は、この遺伝子に関してそれぞれ 1 コピーあるいは 3 コピーをもつ。1 コピーだけをもつ場合は、圧迫性麻痺を伴う遺伝性ニューロパチーあるいはソーセージ様ニューロパチー(OMIM 162500)に罹患する。一方、3 コピーをもつ場合は、臨床的に異なる神経疾患、シャルコー-マリー-トゥース病 1A 型(CMT1A; OMIM 118220)となる。これらの 2 つの疾患は、*PMP22* 遺伝子における点変異によっても引き起こされる。分子的出来事にかかわらず、疾患原因はその単一遺伝子の活性の変化による。

13.5 遺伝型表現型相関関係の探求

遺伝的相互作用の複雑さを考慮すれば、分子病理学が非常に不完全な科学であることは驚くことではない。これまでに最大の成功が得られたのは、がんとヘモグロビン異常症を理解する点においてである。がんでは、説明されるべき表現型(制御を外れた細胞増殖)は比較的単純であるが、一方、ヘモグロビン異常症は、豊富で容易に手に入るタンパク質にみられる異常が直接の原因である。ほとんどの遺伝性疾患において、臨床的特徴というのは多くの原因の長い連鎖反応の最終結末であり、分子病理学の困難な探求対象である遺伝型表現型相関関係は、いつもとらえどころ

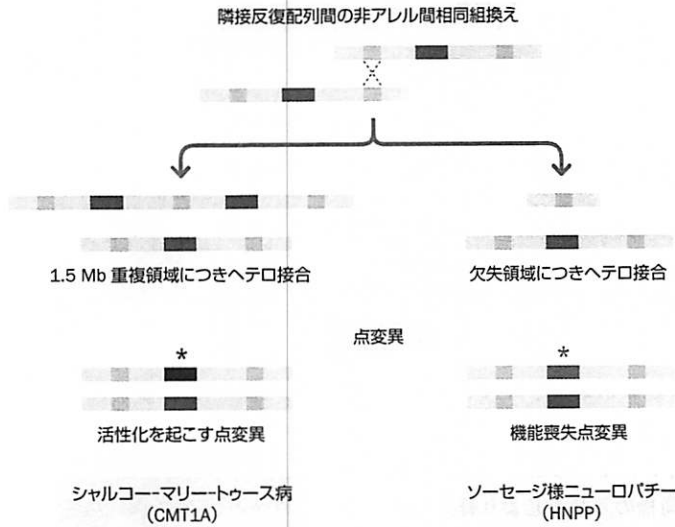


図 13.26 PMP22 遺伝子量は増加しても減少しても病原性となるが、それぞれ異なった疾患を引き起こす
隣接反復配列(黄色四角形)間の不等交差により、PMP22 遺伝子(青色四角形)を含む 1.5 Mb 領域の重複や欠失が起こる。重複はシャルコー-マリートゥース病を引き起こし、欠失はソーセージ様ニューロパチーの原因となる。点変異が PMP22 遺伝子の活性を増加させるかあるいは不活性化するかによって、2 種類の疾患が生じうる。

がない。現実には、単純なメンデル遺伝病さえまったく簡単ではない。この話題に関する参考文献として、Scriver & Waters および Weatherall による総説を強く推奨する。

13.5.1 機能喪失変異の表現型に与える影響は、遺伝子機能の残存レベルに依存する

DNA 配列変化は、さまざまな程度の機能喪失をもたらす。多くのアミノ酸置換はまったくあるいはほとんど影響を与えないが、機能を完全に失わせる変異もある。変異により、遺伝子の一方あるいは両方のコピーに存在している可能性がある。常染色体劣性病態をもつ患者は、しばしば複合ヘテロ接合体 (compound heterozygote: すなわち、各アレルに異なる変異をもつ) である。両方の変異が機能喪失を異なった程度にもたらすならば、最軽症のアレルが残存機能のレベルを規定するであろう。図 13.27 は、残存遺伝子機能のレベルと臨床表現型との 4 つの可能な関係を表す。正常アレルと完全に無機能なアレルとのヘテロ接合の場合、全体として 50% レベルの残存機能をもつであろう。その結果は、50% の活性が正常機能にとって十分であるかどうかにより、劣性(図 13.27A)あるいは優性(図 13.27B)病態のいずれかになる。

X 染色体連鎖ジストロフィン遺伝子の変異は、図 13.27C に示した状況の例であ

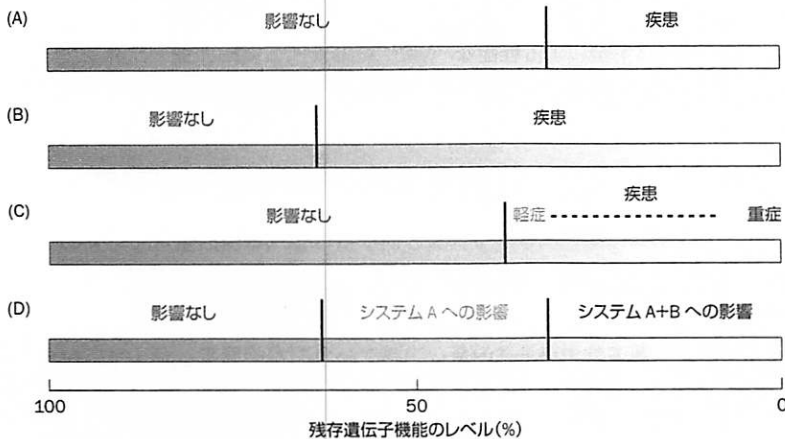


図 13.27 遺伝子機能喪失と臨床表現型との間で起こりうる 4 つの関係
赤の縦線は、遺伝子の 2 つのアレルの複合効果によって作り出される全体としての機能レベルを示す。(A) 50% の残存遺伝子機能ではまったく影響がないこの状態は、単純な劣性になる。(B) この状態はハプロ不全により優性になる。遺伝子機能の 50% 喪失は疾患を引き起こす。(C) この状態は劣性であるが、重症度は残存機能レベルに依存するため、遺伝型表現型相関がある。(D) 残存機能の程度によって臨床の結果が非常に異なるなら、結果は異なる症候群 (A と A+B) として記載される可能性があり、ここに示すように、それらは異なる遺伝形式をもつ可能性がある。具体的な例は本文で議論する。

表 13.6 ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HPRT)活性低下の影響

HPRT 活性(正常に対する%)	表現型
> 60	発病せず
8~60	痛風。神経学的な問題はなし(ケリー-シーグミラー症候群)
1.6~8	痛風とさまざまな神経学的徴候(不器用さ, 舞蹈アテトーゼ)。知的レベルは正常
1.4~1.6	レッシュ-ナイハン症候群, ただし知的レベルは正常
< 1.4	レッシュ-ナイハン症候群(OMIM 300322)。痙縮, 舞蹈アテトーゼ, 自傷行為, 精神遅滞

HPRTはX染色体連鎖遺伝子(OMIM 308000)である。男性の表現型は, 単一HPRT遺伝子の活性を直接反映する。

る。この場合, 疾患の重症度が残存活性の程度とよく相関する。罹患男性における遺伝子機能の完全な喪失は, 重度のデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD; OMIM 310200)を引き起こすが, 欠失の程度が軽ければ同様の, しかしより軽症の病態であるベッカー型筋ジストロフィー(BMD; OMIM 300376)を引き起こす。名称が異なるにもかかわらず, 両者は同じ病因と同じ病態をもち, 両者は重症度のみ異なる。重症度が異なる理由は図 13.16 に示した。X染色体連鎖ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HPRT)遺伝子の変異は, 同様の, しかし臨床的にさらに明らかな一連の疾患群を示す(表 13.6)。これらの疾患には明確な遺伝型表現型相関関係がある。

時には残存遺伝子機能のレベルの違いにより, 遺伝形式すら異なる可能性のある異なる臨床病態がもたらされることもある(図 13.27D)。以下に例を挙げる。

- 異なる程度の機能喪失を引き起こす DTDST 硫酸塩輸送体遺伝子中の変異は, 常染色体劣性骨格形成不全の原因となるが, 重症度によって異なった疾患名が与えられている。捻曲性骨異形成症(OMIM 226600), 多発性骨端異形成症 4(OMIM 226900), 骨発生不全症 II 型(OMIM 256050), および軟骨無発生症 1B 型(OMIM 600972)である。細胞外マトリックスには, ヘパラン硫酸やコンドロイチン硫酸などの硫酸化プロテオグリカンが豊富であり, 硫酸塩輸送の欠陥は骨格の発生を妨げる。
- KVLQT1 K⁺チャネルにおける単純な機能喪失変異は, ヘテロ接合体には何も影響がない。ところが, 同じ遺伝子における優性ネガティブ変異は, 全体としての機能を正常の約 20% に減少させ, 優性遺伝性のロマンワード症候群(OMIM 192500: 心不整脈)を生み出す。機能喪失変異のホモ接合による全機能喪失は, より重篤な劣性のイェルヴェル-ラング=ニールセン症候群(OMIM 220400: 心疾患と聴力損失)を引き起こす。
- I 型コラーゲンをコードする COL1A1 あるいは COL1A2 遺伝子では, 同じ遺伝子における変異が 2 つ以上の優性病態, 1 つは単純なハプロ不全による軽症なもの, もう 1 つは優性ネガティブ効果によるより重篤な病型を生み出しうる(図 13.24 参照)。

13.5.2 ミトコンドリア変異によって生じた病態では, 遺伝型表現型相関関係は特に乏しい

ミトコンドリア DNA の変異は, ヒトに疾患を引き起こすか否か, またどんな疾患を引き起こすかに関して, 予測できない影響がかなりある。ある特定の mtDNA 配列変化が, いくつかの異なった疾患の患者でみられることもあるし, また同じミトコンドリア病の患者が, mtDNA に異なる変異をもつこともある。さらに, 細胞

は何千個もの mtDNA 分子を含むので、ホモプラスミー (homoplasmy: あらゆる mtDNA 分子が同一) にもヘテロプラスミー (heteroplasmy: 正常および変異ミトコンドリア DNA の混合体) にもなりうる。モザイク状態と異なり、ヘテロプラスミーはヘテロプラスミー卵を通じて母親から子へと伝えることができる。卵細胞は 10 万以上のミトコンドリアを含んでいるので、たとえ母親がヘテロプラスミーであっても、病気の母親のすべての子は少なくともいくつかの変異ミトコンドリアを引き継ぐであろう。しかし、ミトコンドリア病はしばしば非常に低い浸透率を示す (図 3.10, p. 77 参照)。

レーバー遺伝性視神経萎縮症 (OMIM 535000: 突発的な不可逆的失明) は、いくつかの問題を提示する。mtDNA の 18 の異なる点変異がこの病態に関連している。18 のうち 5 つの点変異は、単独で疾患を引き起こすのに十分なほど重大な影響を及ぼし、また他の 13 の点変異には疾患に寄与する効果がある。罹患者の 50% は、g.11778G → A の置換をもつ。重症例はいうまでもなく、患者の大部分はホモプラスミーであるが、約 14% はヘテロプラスミーである。ホモプラスミー家系でさえ、病態はきわめて可変である。全体的な浸透率は 33 ~ 60% で、罹患者の 82% は男性である。

この乏しい相関関係には、いくつかの理由が考えられる。

- ミトコンドリア DNA は核 DNA よりかはるかに可変で、報告された変異と他の未確認の配列多様体との組み合わせに依存する症候群もあるかもしれない。
- ミトコンドリア病のなかには、定量的性質があるようにみえるものもある。ミトコンドリアのエネルギー産生能を減少させる変異による小さい変化が蓄積し、産生能がある閾値を下回ると臨床徴候が現れる。
- ヘテロプラスミーは組織特異的である場合があり、調べた組織 (通常は血液か筋肉) が疾患病理学にかかわる重要な組織ではないかもしれない。
- 生殖細胞系列発生の早期に、細胞は少数のミトコンドリアだけを含む段階 (ミトコンドリアボトルネック) を通過する。ヘテロプラスミーの母親では、この段階における無作為抽出が偏る結果、ボトルネック前後で正常ミトコンドリアに対する変異ミトコンドリアの割合がかなり異なるかもしれない。したがって、ヘテロプラスミーの程度は母子間で大きくばらつく可能性がある。
- ミトコンドリアゲノムの重複と欠失は、しばしば単独の罹患者内で数年間かけて発展する。同様に、ヘテロプラスミーな人々では、変異ミトコンドリアの割合は時間がたつにつれて変化する可能性がある。
- 多くのミトコンドリア機能は、核遺伝子によってコードされている。そのため核の多様性は、ミトコンドリア表現型の重要な原因あるいは修飾要因になりうる。

ミトコンドリア変異に関するデータベース MITOMAP (<http://www.mitomap.org>) には、すぐれた一般的議論と、表現型予測がいかに大きな課題であるかを示す大規模なデータ表がある。

13.5.3 家系内の多様性は、修飾遺伝子や偶発効果の証拠である

多くのメンデル遺伝病は、まったく同じ変異をもち同じ家系に属する罹患者の間ですら、臨床的に多様である。家系内の多様性は、他の非連鎖遺伝子 (修飾遺伝子) の影響と (偶発的な出来事を含む) 環境要因のなんらかの組み合わせで生じているに違いない。ヒトは、実験動物に比べて幅広い遺伝的多様性と広範な環境的多様性を示す自然個体群の典型であるため、その遺伝型表現型相関関係が実験マウスよりはるかに緩いのは驚くべきことではない。ハプロ不全に依存する表現型は、修飾要因

の影響に特に敏感である。ワールデンブルグ症候群はその典型例である。図 13.23 はこの優性病態がハプロ不全によって引き起こされている証拠を示し、また図 3.17 は典型的な家系内多様性を示している。

遺伝型に初期変異と同様に修飾要因を考慮に入れるなら、遺伝型表現型相関関係は明らかにより正確になるであろう。しかしながら、ヒトにおける修飾遺伝子の同定と解明はまだ道半ばである。ヒトの遺伝学的解析において必ず突き当たる限界を鑑みるに、最も実り多い研究は、疾患にかかわる生化学的経路を構成する全分子の同定によりもたらされる可能性がある。

13.6 まとめ

本章では、2人の個人のゲノムには異なる点がいかに多いかを述べた。これは主として、一塩基多型、多様な反復数をもつ縦列反復配列、および大規模なコピー数多様体によっている。これらの違いを研究することは、ヒト集団の多くの特徴を理解することと直接関連している。同系交配と生殖隔離の点からみた集団構造、異なった集団の相互関係、集団の地理的および歴史的起源、これらのすべての面が、遺伝的多様性の研究で明るみにさらされる。

健康と疾患の研究になると、それほど単純ではない。配列多様体を健康と疾患に結びつけるには、両方の側面から問題に迫る必要がある。本章では、ある特定の配列多様体が病原性であるかどうかを決定する方法をみてきた。ある場合には答えは明確だが、単に DNA 配列をみただけでは明らかな答えが得られない例はあまりにも多い。配列変化が病原性であると確信できる場合でさえ、その変化が引き起こすであろう実際の臨床徴候を予測できることはめったにない。DNA と疾患を関連させるのには、疾患側からも検討する必要がある。遺伝性疾患の研究により、原因に関係する配列多様体を特定できる。次章で示すように、この研究方法はメンデル遺伝病で大いに成果を上げてきている。適切な家系があれば、あるメンデル形質をもたらしている遺伝子の染色体上の位置を特定することは比較的やさしい(第14章)。通常それにより、研究者は続けて関連遺伝子を特定できる(第16章)。しばしば、ある特定の遺伝子の機能不全がなぜ特定の一連の症候群を引き起こすのかは不明なままであるが、少なくともその病原性の配列多様体は通常、明白に特定できる。

多くの遺伝的多様体はメンデル遺伝病を引き起こさないが、健康に影響することもあるかもしれない。遺伝的感受性因子は、多くのよくある疾患の、唯一ではないが重要な決定因子である。特定の配列多様体を特定の疾患感受性に結びつけるのは非常に困難な仕事で、完成からはほど遠い。第15章と第16章で、その領域での進歩を再検討する。うまくいけば、将来的には個人のゲノム配列を解析することにより、健康の予測に有用な情報を取り出すことができるようになるだろう。このことは、遺伝学的検査と集団検診に関するさまざまな問題を提起する。これらは第18章と第19章で扱う。

参考文献

ヒトゲノム間にみられる多様性のタイプ

- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP et al. (2008) Accurate whole-genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature* 456, 53–59. [おもに、個人のゲノム配列を決定する Illumina 社のテクノロジーを使用するための技術的説明]
- DbSNP. www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP [Build 126 にある 1200 万項目には、まれな病原性配列多様体や一塩基多型より複雑な変化もいくつか含まれる]
- Decipher database of pathogenic large-scale variants. <http://decipher.sanger.ac.uk/>
- Den Dunnen JT & Antonarakis SE (2001) Nomenclature for the description of human sequence variations. *Hum. Genet.* 109, 121–124.
- Horaitis O, Talbot CC Jr, Phommarinh M et al. (2007) A database of locus-specific databases. *Nat. Genet.* 39, 425. [部位特異的変異のデータベースに関する声明文]
- Jakobsson M, Scholz SW, Scheet P et al. (2008) Genotype, haplotype and copy-number variation in worldwide human populations. *Nature* 451, 998–1003. [29 のヒト集団に由来する個人における SNP とコピー数多様性の分析]
- Kidd JM, Cooper GM, Donahue WF et al. (2008) Mapping and sequencing of structural variation from eight human genomes. *Nature* 453, 56–64. [アジア、ヨーロッパ、アフリカからの個人における、8 kb 以上の長さの配列多様体の組織的調査]
- Korbel JO, Urban AE, Affourtit JP et al. (2007) Paired-end mapping reveals extensive structural variation in the human genome. *Science* 318, 420–426. [3 kb 以上の長さのコピー数多様体を検出する方法を用いた結果]
- Levy S, Sutton G, Ng PC et al. (2007) The diploid genome sequence of an individual human. *PLoS Biol.* 5, e254. [Craig Venter (クレイグ・ベンター)のゲノム塩基配列]
- Li JZ, Absher DM, Tang H et al. (2008) Worldwide human relationships inferred from genome-wide patterns of variation. *Science* 319, 1100–1104. [SNP データを用いたヒト集団関係の推論]
- Lukusa T & Fryns JP (2008) Human chromosome fragility. *Biochim. Biophys. Acta* 1779, 3–16. [染色体脆弱部位の概説]
- Mutation databases. <http://www.genomic.unimelb.edu.au/mdi/> The Human Genome Variation Society Mutation Database Initiative lists details and links for many databases, including <http://www.hgvbaseg2p.org> [ヒトゲノム多型データベース], <http://archive.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/hgmd0.html> [ヒト遺伝子変異データベース], <http://www.mitomap.org> [ミトコンドリア遺伝子変異データベース]
- Mutation nomenclature. <http://www.hgvs.org/mutnomen/> [すべての DNA 配列変化の命名に関するガイドライン]
- Perry GH, Dominy NJ, Claw KG et al. (2007) Diet and the evolution of human amylase gene copy-number variation. *Nat. Genet.* 39, 1256–1260. [表現型に影響を与え、選択を受けたことがあるコピー数多様体の例]
- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR et al. (2006) Global copy number variation in the human genome. *Nature* 444, 444–454. [HapMap 検体にみられる大規模な配列多様体の主要研究]
- TCAG Database of Genomic Variants. <http://projects.tcag.ca/variation/> [健康者にみられる大規模な配列多様体]
- Wang J, Wang W, Li R et al. (2008) The diploid genome sequence of an Asian individual. *Nature* 456, 60–65.
- Wheeler DA, Srinivasan M, Ehgolm M et al. (2008) The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature* 452, 872–877. [James Watson (ジェームズ・ワトソン)のゲノム塩基配列]
- Wong KK, deLeeuw RJ, Dosanih NS et al. (2007) A comprehensive analysis of common copy-number variations in the human genome. *Am. J. Hum. Genet.* 80, 91–104. [16 の民族集団からの 95 個体にみられる、40 kb 以上の長さの配列多様体]

多くの遺伝的多様性をもたらす究極の原因は、DNA 損傷修復の失敗である

- Barnes DE & Lindahl T (2004) Repair and genetic consequences of endogenous DNA base damage in mammalian cells. *Annu. Rev. Genet.* 38, 445–476. [包括的総説]
- Buchwald M (1995) Complementation: one or more groups per gene? *Nat. Genet.* 11, 228–230. [細胞融合による相補性試験の価値と限界に関する貴重な議論、ただし提起されている直接的疑問は以前に解決されている]
- Friedberg EC (2003) DNA damage and repair. *Nature* 421, 436–440. [DNA 損傷と修復に関する我々の理解がどう展開してきたかを歴史的観点からまとめた読みやすい記事]
- Klein HL (2008) DNA endgames. *Nature* 455, 740–741. [DNA 二本鎖がどのように切断され修復されるかについての簡潔な概説]
- Kraemer KH, Patronas NJ, Schiffmann R et al. (2007) Xeroderma pigmentosum, trichothiodystrophy and Cockayne syndrome: a complex genotype-phenotype relationship. *Neuroscience* 145, 1388–1396. [ヌクレオチド除去修復経路とその欠陥]
- McKinnon PJ & Caldecott KW (2007) DNA strand break repair and human genetic disease. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 8, 37–55. [DNA 一本鎖や二本鎖の切断の修復、およびその欠陥から生じる疾患を概説]
- Schumacher B, Garinis GA & Hoeijmakers JHJ (2007) Age to survive: DNA damage and ageing. *Trends Genet.* 24, 77–85.
- Wang W (2007) Emergence of a DNA-damage response network consisting of Fanconi anaemia and BRCA proteins. *Nat. Rev. Genet.* 8, 735–748.

病原性の DNA 配列多様体

- Bucciantini M, Giannoni E, Chiti F et al. (2002) Inherent cytotoxicity of polypeptide aggregates suggests a common origin of protein misfolding diseases. *Nature* 416, 507–511.
- Grantham RF (1974) Amino acid difference formula to help explain protein evolution. *Science* 185, 862–864. [グランサム行列はアミノ酸置換の影響を定量化する]
- Groman JD, Hefferon TW, Casals T et al. (2004) Variation in a repeat sequence determines whether a common variant of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator gene is pathogenic or benign. *Am. J. Hum. Genet.* 74, 176–179. [5T/7T/9T および (TG)_n 配列多様体が CFTR mRNA のスプライシングに及ぼす影響]
- Hardy J & Orr H (2006) The genetics of neurodegenerative disease. *J. Neurochem.* 97, 1690–1699.
- Holbrook JA, Neu-Yilik G, Hentze MW & Kulozik AE (2004) Nonsense-mediated decay approaches the clinic. *Nat. Genet.* 36, 801–808.
- Inoue K, Khajavi M, Ohyama T et al. (2004) Molecular mechanism for distinct neurological phenotypes conveyed by allelic truncating mutations. *Nat. Genet.* 36, 361–369. [ナンセンス変異介在性分解によるさまざまな分子病理学の例となる SOX10 と MPZ]
- Isken O & Maquat LE (2008) The multiple lives of NMD factors: balancing

- roles in gene and genome regulation. *Nat. Rev. Genet.* 9, 699–712. [細胞におけるナンセンス変異介在性分解の役割に関する詳細な総説]
- Komar AA (2007) SNPs—silent but not invisible. *Science* 315, 466–467. [MDR1 遺伝子における静的多型が基質特異性を変化させることを示したデータに関する議論]
- Mirkin SM (2007) Expandable DNA repeats and human disease. *Nature* 447, 932–940. [動的変異の不安定性をもたらすメカニズムの可能性に関する総説]
- Orr HT & Zoghbi HY (2007) Trinucleotide repeat disorders. *Annu. Rev. Neurosci.* 30, 575–621. [疾患とその病因に関する信頼できる概説]
- Pearson CE, Edamura KN & Cleary JD (2005) Repeat instability: mechanisms of dynamic mutations. *Nat. Rev. Genet.* 6, 729–742. [読破は容易ではないが、大量のデータと考察がある]
- Wang GS & Cooper TA (2007) Splicing in disease: disruption of the splicing code and the decoding machinery. *Nat. Rev. Genet.* 8, 749–761. [スプライシングの混乱がもたらす病原性効果の多数の例]

分子病理学：配列多様体の影響を理解する

- Karniski LP (2001) Mutations in the diastrophic dysplasia sulfate transporter (DTDST) gene: correlation between sulfate transport activity and chondrodysplasia phenotype. *Hum. Mol. Genet.* 10, 1485–1490.
- Lester HA & Karschin A (2000) Gain of function mutants: ion channels and G protein-coupled receptors. *Annu. Rev. Neurosci.* 23, 89–125. [多くの詳細な例、ただしヒトの例がすべてではない]
- Marini JC, Forlino A, Cabral WA et al. (2007) Consortium for osteogenesis imperfecta mutations in the helical domain of type I collagen: regions rich in lethal mutations align with binding sites for integrins and proteoglycans. *Hum. Mutat.* 28, 209–221. [800 以上の変異にみられる遺伝型表現型相関の解析。]
- Owen MC, Brennan SO, Lewis JH & Carrell RW (1983) Mutation of antitrypsin to antithrombin: α -1-antitrypsin Pittsburgh (358 met-to-arg), a fatal bleeding disorder. *N. Engl. J. Med.* 309, 694–698.
- Rauch F & Glorieux FH (2004) Osteogenesis imperfecta. *Lancet* 363, 1377–1385. [臨床を指向した概説]
- Shenker A, Laue L, Kosugi S et al. (1993) A constitutively activating mutation of the luteinizing hormone receptor in familial male precocious puberty. *Nature* 365, 652–654.
- Wollnik B, Schroeder BC, Kubisch C et al. (1997) Pathophysiological mechanisms of dominant and recessive KVLQT1 K⁺ channel mutations found in inherited cardiac arrhythmias. *Hum. Mol. Genet.* 6, 1943–1949.
- Zlotogora J (2007) Multiple mutations responsible for frequent genetic diseases in isolated populations. *Eur. J. Hum. Genet.* 15, 272–278. [創始者効果と選択による低いアレル異質性]

遺伝型表現型相関関係の探求

- Carrell RW & Lomas DA (2002) α -1-Antitrypsin deficiency—a model for conformational diseases. *N. Engl. J. Med.* 346, 45–53.
- Khrapko K (2008) Two ways to make an mtDNA bottleneck. *Nat. Genet.* 40, 134–135. [ミトコンドリアボトルネックの簡潔な概説]
- Maniè S, Santoro M, Fusco A & Billaud M (2001) The RET receptor: function in development and dysfunction in congenital malformation. *Trends Genet.* 17, 580–589.
- Pasini B, Ceccherini I & Romeo G (1996) RET mutations in human disease. *Trends Genet.* 12, 138–144.
- Scriver CR & Waters PJ (1999) Monogenic traits are not simple: lessons from phenylketonuria. *Trends Genet.* 15, 267–272.
- Wallace DC, Lott MT, Brown MD & Kerstann K (2001) Mitochondria and neuro-ophthalmologic diseases. In *The Metabolic & Molecular Bases Of Inherited Disease*, 8th ed. (CR Scriver, AL Beaudet, WS Sly, D Valle eds), pp 2425–2509. McGraw Hill.
- Weatherall DJ (2001) Phenotype–genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias. *Nat. Rev. Genet.* 2, 245–255.
- Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR & Wood WG (2001) The Hemoglobinopathies. In *The Metabolic & Molecular Bases Of Inherited Disease*, 8th ed. (CR Scriver, AL Beaudet, WS Sly, D Valle eds), pp 4571–4636. McGraw Hill.

■ 訳者

後藤貞夫	小倉中井病院 院長(第 1 章)
深川竜郎	国立遺伝学研究所分子遺伝研究部門 教授(第 2 章)
吉住秀之	国立病院機構九州医療センター内科 医長(第 3 章)
深町博史	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子腫瘍医学 講師(第 4, 5 章)
西本正純	埼玉医科大学ゲノム医学研究センター RI 実験施設(第 6 章)
久武幸司	筑波大学大学院人間総合科学研究科生命システム医学専攻分子生物腫瘍学分野 教授(第 7 章)
宮島郁子	翻訳家(第 8, 11 章, 用語解説)
三嶋行雄	新潟大学大学院医歯学総合研究科遺伝子制御講座 准教授(第 9 章)
福永理己郎	大阪薬科大学生化学研究室 教授(第 10 章)
岡崎康司	埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 所長(第 12 章)
高田俊範	新潟大学大学院医歯学総合研究科内部環境医学 准教授(第 13 章)
後藤 順	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学 講師(第 14 章)
石浦浩之	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学(第 14 章)
鎌谷直之	理化学研究所横浜研究所ゲノム医科学研究センター長(第 15 章)
三井 純	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学(第 16 章)
松川敬志	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学(第 16 章)
伊達英俊	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学 特任助教(第 16 章)
日合 弘	京都大学大学院医学研究科メディカルイノベーションセンター悪性制御ラボ 特任教授(第 17 章)
市川弥生子	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学 助教(第 18 章)
高橋祐二	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学 助教(第 18 章)
平良摩紀子	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学(第 18 章)
木南 凌	新潟大学大学院医歯学総合研究科遺伝子制御講座 教授(第 19 章)
佐藤俊哉	新潟大学脳研究所附属生命科学リソース研究センター動物資源開発研究分野 助教(第 20 章)
谷 憲三郎	九州大学生体防御医学研究所ゲノム病態学分野 教授(第 21 章)
前田豊樹	九州大学病院別府病院内科 准教授(第 21 章)

編集・制作：有限会社サイト編集室
表紙装丁：岩崎邦好デザイン事務所

表紙イラスト：NHGI, NIH の 1000 ゲノムプロジェクトのイラストから引用。Jane Ades の厚意による。
裏表紙イラスト：454 Sequencing。© 2010 Roche Diagnostics

Authorized translation from English language edition,
“Human Molecular Genetics”, Fourth Edition by Tom Strachan and Andrew Read,
published by Garland Science, part of Taylor & Francis Group LLC.

Copyright © 2011 by Garland Publishing
All rights reserved.

© Fourth Japanese Edition 2011 by Medical Sciences International, Ltd., Tokyo

Printed and Bound in Japan

ヒトの分子遺伝学 第4版 定価(本体12,000円+税)

1997年12月15日発行 第1版第1刷
2001年9月5日発行 第2版第1刷
2005年10月31日発行 第3版第1刷
2011年11月30日発行 第4版第1刷 ©

著者 トム・ストラッチャン
アンドリュウ・リード

監修者 ^{むらまつまさみ}
村松正實
^{こみなみりょう}
木南凌

発行者 株式会社 メディカル・サイエンス・インターナショナル
代表取締役 若松 博
東京都文京区本郷1-28-36
郵便番号113-0033 電話(03)5804-6050

印刷：日本制作センター／装丁：岩崎邦好デザイン事務所

ISBN 978-4-89592-691-1 C3047

JCOPY (社) 出版者著作権管理機構 委託出版物

本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。
複写される場合は、そのつど事前に、(社) 出版者著作権管理機構
(電話03-3513-6969, FAX03-3513-6979, info@jcopy.or.jp)
の許諾を得てください。