

※本件に係る報道解禁

テレビ・ラジオ・インターネット：日本時間 8 月 24 日（水）午後 6 時
新聞：日本時間 8 月 25 日（木）朝刊

プレス通知資料（研究成果）



国立大学法人
東京医科歯科大学
TOKYO MEDICAL AND DENTAL UNIVERSITY

報道関係各位

2022 年 8 月 22 日

国立大学法人東京医科歯科大学

「タンパク質構造を変化させる遺伝子多型を同定する手法を開発」

— 選択的スプライシングの複雑性を読み解くことで疾患の病態解明に挑む —

【ポイント】

- タンパク質構造を変化させる選択的スプライシングに注目した、2つのスプライシング QTL 解析^{※1}の手法を開発しました。
- 無数のスプライシングイベントの中から、生物学的に意味のあるスプライシングアイソフォーム^{※2}を効率良く検出することが可能となりました。
- この手法は、様々な疾患のゲノムワイド関連解析(GWAS)^{※3}で明らかになった候補領域における病因メカニズムの解明に適応可能です。

東京医科歯科大学難治疾患研究所バイオデータ科学研究部門ゲノム機能多様性分野の高地雄太教授の研究グループは、東京医科歯科大学生体材料工学研究所、東京大学、理化学研究所との共同研究で、GWAS 候補領域における原因メカニズムの解明のために、タンパク質構造を変化させる選択的スプライシングを効率的に同定する 2 つのスプライシング QTL 解析手法を開発しました。その研究成果は、国際科学誌 Nature Communications に、2022 年 8 月 24 日午前 10 時(英国夏時間)にオンライン版で発表されます。

【研究の背景】

遺伝子は、DNA 配列から RNA が転写され、それを鋳型にタンパク質が翻訳されます。選択的スプライシングは、RNA の形成の段階で配列の取舍選択を行い、複数の成熟 RNA を生み出しますが、タンパク質の多様性をもたらす最も重要なメカニズムです。この選択的スプライシングは、個人の遺伝子配列の違い(遺伝子多型)によって影響を受けることが知られており、そのような遺伝子多型をスプライシング QTL といいます。これらの一部は、免疫・アレルギー疾患、糖尿病などの様々な疾患の主要な病因メカニズムであることが知られています。しかし、選択的スプライシングはこれまでに想定されてきたよりも複雑なイベントであり、タンパク質構造を変えないものも含めると、ヒトゲノムにある約 2 万個の遺伝子から、数十万種以上に及ぶ成熟 RNA(スプライシングアイソフォーム)を生み出すことがわかってきました。これらの中から生物学的に重要なスプライシングを同定し、疾患の病態解明に繋げるためには、何らかの戦略的な工夫が必要と考えられます。

【研究成果の概要】

スプライシング QTL によって影響をうけるスプライシングアイソフォームの大部分は、非翻訳領域(UTR; untranslated region)のみの変化であり、タンパク質に翻訳されるコーディング配列(CDS; coding sequence)には影響を与えない、すなわちタンパク質構造を変えないことが知られています。そこで研究グループは、同一の CDS を持つスプライシングアイソフォームを統合することで、タンパク質構造に変化を与えるスプライシング QTL のみを効率的に検出する手法、 i^2 -rQTL 解析(integrated-isoform ratio QTL 解析, 図 1A)を考案しました。この手法で、T 細胞、B 細胞などの 5 種類の免疫細胞で、スプライシング QTL 解析を行ったところ、各細胞で 300~600 個のスプライシング QTL を同定することができました。

これらの i^2 -rQTL 多型はタンパク質の構造変化を起こすことから、そのタンパク質の機能に大きく影響を与えることが考えられます。その結果、タンパク質が機能するパスウェイの下流の遺伝子群の発現に影響を与えることと推定されます(図 1B)。実際に、 i^2 -rQTL 多型は、タンパク質構造を変えないスプライシング QTL 多型と比較して、他の遺伝子群の発現量により大きな影響を与えていることがわかりました(図 1C)。また、これらの i^2 -rQTL 多型の一部は、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、クローン病などの免疫疾患の原因となっていることも明らかになりました。

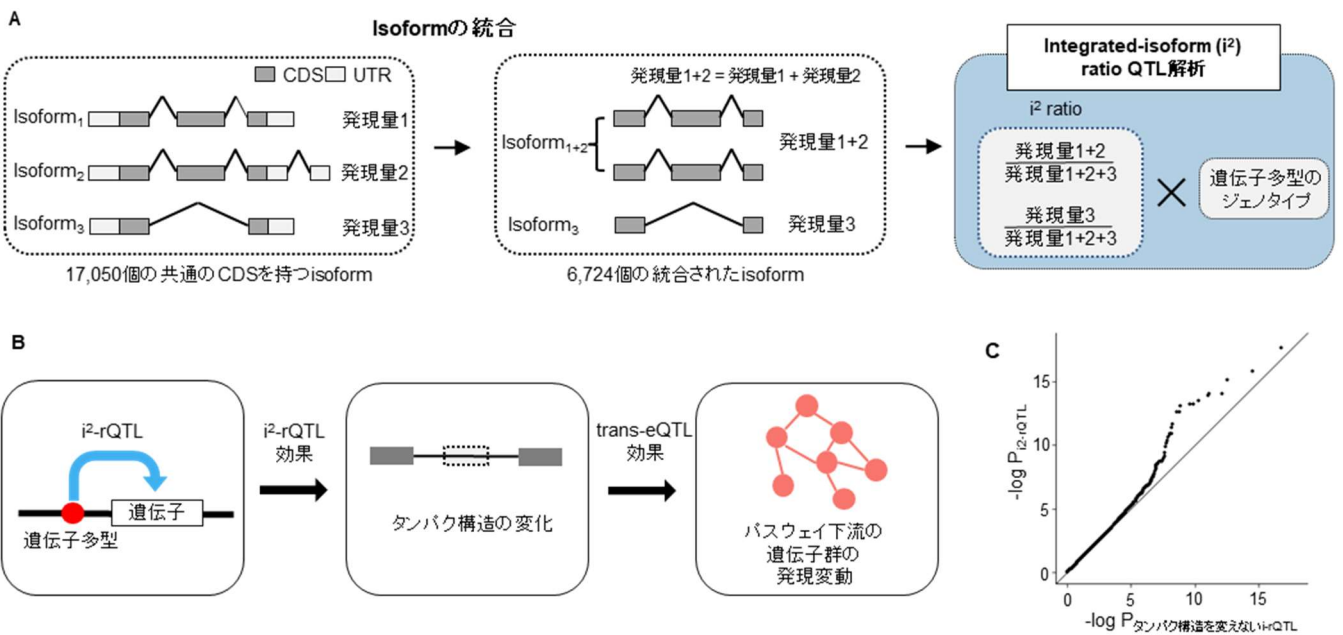


図 1. i^2 -rQTL (integrated-isoform ratio QTL)解析

もう一つの戦略として、研究グループは、CDS incomplete isoform (CDSI)に注目したスプライシング QTL 解析を提案しました。CDSI とは、既知の CDS と異なる配列が断片的ながらデータベースに登録されているスプライシングアイソフォームのことです。これまでのほとんどの研究では注目されずに解析から除外されていましたが、これらの中に生物学的に意味のあるアイソフォームが含まれる可能性を考えました。そこで、第4世代シーケンシング技術を利用した、ロングリードキャプチャーRNA シーケンシングという手法を用いて、疾患と関連すると考えられる CDSI の全長を網羅的に同定しました(図 2A)。全長が明らかになったスプライシングアイソフォームに対して、スプライシング QTL 解析を行ったところ、29 のスプライシングアイソフォームが、何らかの疾患の原因となっていることが明らかになりました。また、これらの全長が明らかになったもののアミノ酸配列からタンパク質高次構造を予測することで、その機能を推定可能であることも示しました(図 2C)。

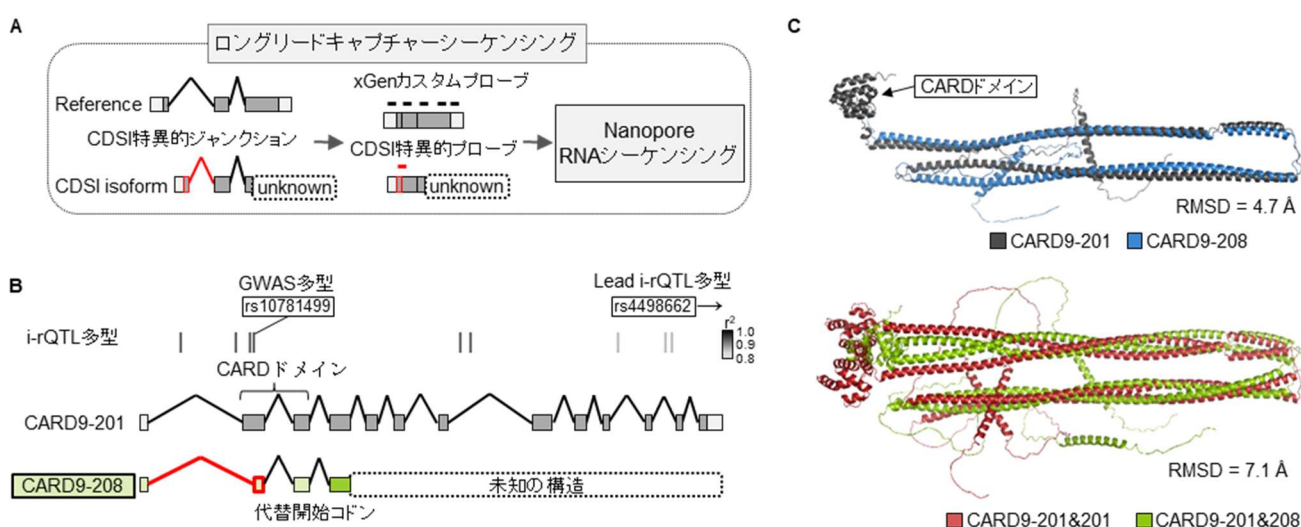


図 2. CDSI に対するロングリードキャプチャーRNA シーケンシング

【研究成果の意義】

本研究では、複雑で解釈が難しかった無数のスプライシングアイソフォームの中から、2 つの新しいアプローチを用いて、疾患の原因となっているものに迫ることが可能であることを示しました。また今回の解析手法は、免疫疾患に限らず、全ての疾患に適応できるものです。これまで、GWAS という研究手法で、延べ 5 万を超える遺伝子領域が疾患と関連することが明らかになってきましたが、その 2~3 割はスプライシング QTL が原因となっているという推計もあるため、本研究で開発した手法は様々な疾患の病態解明を加速させる可能性を秘めています。

【用語解説】

※1 スプライシング QTL 解析……………塩基多型(SNP)などの遺伝子多型が選択的スプライシングに影響を与えていることを評価する解析手法のこと。遺伝子多型のジェノタイプとスプライシングアイソフォームの発現量や発現比の相関を、統計学的に検定する。QTL(quantitative trait locus)は、遺伝学用語で、量的形質(身長、

遺伝子発現量など)と関係する遺伝子座のこと。

※² スプライシングアイソフォーム……………遺伝子は、DNA を鋳型に RNA が転写されるが、この RNA 配列はエクソン領域と、スプライシングによって切り出されるイントロン領域に分かれる。エクソン領域のみとなった成熟 RNA(メッセンジャーRNA)を鋳型に、タンパク質が翻訳される。選択されるエクソン領域は、RNA 分子ごとに異なるが、個々の成熟 RNA をスプライシングアイソフォームと定義する。

※³ ゲノムワイド関連解析(GWAS; genome-wide association study) ……………ゲノム上に存在する約 100 万個の SNP を遺伝マーカーとして用いて、疾患の原因となっている遺伝子領域を探索する手法。

【論文情報】

掲載誌: Nature Communications

論文タイトル: Splicing QTL analysis focusing on coding sequences reveals the causal mechanisms for disease susceptibility loci.

【研究者プロフィール】

山口 健介 (ヤマグチ ケンスケ) Yamaguchi Kensuke

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 医歯理工融合イノベーションセンター

特任助教

・研究領域

ゲノム医学、膠原病内科学



高地 雄太 (コウチ ユウタ) Kochi Yuta

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

ゲノム機能多様性分野 教授

・研究領域

ゲノム医学、膠原病内科学



【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学難治疾患研究所

ゲノム機能多様性分野

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

電話 & FAX: 03-5803-4817

E-mail: y-kochi.gfd@mri.tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail:kouhou.adm@tmd.ac.jp