

ファンコニ貧血の新規原因遺伝子 RFWD3 とその機能を明らかに

概要

高田穰（たかたみのる）放射線生物研究センター教授らの研究グループは、白血病の原因となる小児遺伝性疾患「ファンコニ貧血¹」の病態完全解明を目標に努力を続けています。この度、独・ビュルツブルグ大、スペイン・バルセロナ自治大学のグループとの共同研究を通して、RFWD3 という遺伝子の異常によってファンコニ貧血が引き起こされることを発見しました。論文は7月11日、*Journal of Clinical Investigation* に掲載されました。さらに RFWD3 には DNA 修復の制御蛋白である RPA と RAD51 を適切なタイミングで DNA 上から取り除く分子機能があることも発見し、論文は6月1日付けの *Molecular Cell* に発表されました。



1. 背景

小児の再生不良性貧血、急性骨髄性白血病、がんの重要な原因である「ファンコニ貧血¹」は、日本では100万人に10人程度と稀ながら、DNA損傷修復の欠損による典型的な病態として有名な疾患です。また、「家族性乳がん²」と原因遺伝子が共通であるため学術的な重要性が高く、注目されている疾患です。

ファンコニ貧血はDNA損傷のうち、DNA鎖間架橋(以下、ICL)というタイプの損傷が修復できないために引き起こされます。ICL損傷は代表的抗がん剤シスプラチンや体内のアルデヒドによって引き起こされるタイプの損傷で、遺伝子の転写やDNA複製を妨げます。ファンコニ貧血の原因遺伝子を研究することでICL損傷の修復メカニズムが明らかになるため、現在までに20以上の原因遺伝子とそのICL修復機能が報告されてきました。今回の研究はドイツで見つかった10代の患者さんの遺伝子解析から原因遺伝子候補としてRFWD3

¹ 小児の遺伝性再生不良性貧血の原因として最も頻度が高く有名な疾患。父母両方が発症しないが遺伝子異常をもっている場合、子供は4分の1の割合で発症する。出生時は体が小さく親指や前腕橈骨に奇形を持つことが多い。その後だんだんと貧血が進行し、白血病や舌がんなどの発症に至る。根治治療は骨髄移植で治療結果も良くなってきているものの、いまだ生命を脅かす重大な疾患で厚労省指定難病の一つ。内因性のアルデヒドによる骨髄幹細胞の傷害が原因の一つと考えられている。

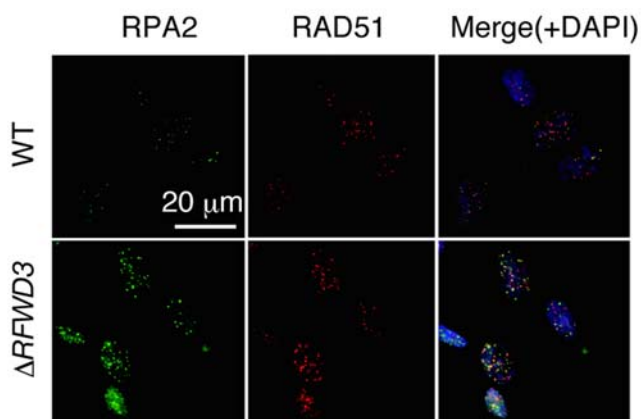
² 相同組換えに必要なBRCA1, BRCA2遺伝子のうち一方にヘテロ変異をもつ場合、乳癌や卵巣癌等のリスクが飛躍的に高くなる。欧米の乳癌患者さんのうち5-10%がこの変異を持つ。BRCA2などの相同組換え関連遺伝子がホモ変異している場合はファンコニ貧血の症状を呈することが報告されており、RFWD3変異の患者さんにも同様の症状が現れる。

が同定されたことをきっかけにスタートしました。

2. 研究手法・成果

RFWD3 遺伝子に異常を持つ患者さんの細胞では、ICL を導入する薬剤(抗がん剤シスプラチン等) に強い感受性を持っていました。この感受性は RFWD3 遺伝子を導入することで回復しました。さらに、ニワトリのリンパ球で RFWD3 のノックアウト細胞を作成し、ファンコニ貧血として妥当な性質が得られることを確認しました。さらに、患者さんで見られたアミノ酸を変化させる変異が RFWD3 の DNA 修復機能を抑制することを確認し、重要な DNA 修復タンパク質である RPA との結合力が低下しているというメカニズムを解明しました。また、スペインの共同研究先で作成したノックアウトマウスでも同様の現象がみられることを確認しました。

次に RFWD3 が ICL の修復にどのように関わっているかをヒトの細胞株を用いて検証しました。ICL の修復を単純化すると、大きく分けて 1)DNA 二重鎖切断の導入、2)引き続く「相同組換え」による DNA 修復、となります。RFWD3 ノックアウト細胞では、DNA 修復の重要な制御因子である RPA, RAD51 という二つのタンパク質が DNA 上に蓄積することから、RFWD3 の作用点は ICL 修復の後半のステップであると推測しました。そして、RFWD3 は RPA と RAD51 を DNA 上から取り除くことで、DNA 修復のスムーズな進行を担保しているということをヒト細胞株での実験、精製したタンパク質を使った実験の双方で証明しました。RFWD3 を欠失した細胞では RPA, RAD51 の可動性が低下し、それに伴い DNA 修復の活性が劇的に低下することから、きわめて重要な因子であることが示唆されます。



RFWD3 がない細胞では、クロマチンに結合した RPA と RAD51 蛋白(ドット状に見えます)が目立ち、共存しています。

3. 波及効果、今後の予定

今回の発見でファンコニ貧血の病態解明がまた一歩進みました。また、DNA 修復の分子機構についての知見は、抗がん剤による合理的ながん治療戦略を考える上でも重要なことであると考えられます。加えて、RFWD3 はヘテロ変異のキャリアで家族性乳がん・卵巣がんなどを引き起こす可能性が予想されます。血縁にこれらのがんが多いにもかかわらず既知の原因遺伝子に変異がない患者さんでは、RFWD3 が原因となってい

る可能性を検討する必要があるかもしれません。

<論文タイトルと著者>

タイトル :

Biallelic mutations in the ubiquitin ligase *RFWD3* cause Fanconi anemia

著者 :

Kerstin Knies, Shojiro Inano, María J. Ramírez, Masamichi Ishiai, Jordi Surrallés, Minoru Takata, and Detlev Schindler

掲載誌 : *Journal of Clinical Investigation*

タイトル :

RFWD3-mediated ubiquitination promotes timely removal of both RPA and RAD51 from DNA damage sites to facilitate homologous recombination.

著者 :

Shojiro Inano, Koichi Sato, Yoko Katsuki, Wataru Kobayashi, Hiroki Tanaka, Kazuhiro Nakajima, Shinichiro Nakada, Hiroyuki Miyoshi, Kerstin Knies, Akifumi Takaori-Kondo, Detlev Schindler, Masamichi Ishiai, Hitoshi Kurumizaka, Minoru Takata

掲載誌 : *Molecular Cell*