公益財団法人 三重医学研究振興会

令和3年度医学研究助成金研究成果報告書

　　　　　令和　3 年　3 月　　4日

**三重医学若手研究者賞（医学研究部門）**

報告者 氏名（年齢） **今　鉄男**（34歳）

所属・職名 長浜バイオ大学ゲノム機能科学研究室　プロジェクト特任助教

○ 受賞の感想と今後の抱負

この度は、三重医学若手研究者賞を頂戴し、誠に光栄に存じます。2008年に三重大学医学部の新医学専攻において研究活動を開始し、今日に至るまで数多くの先生にご指導を頂きました。その過程で、基礎医学研究の魅力と、研究への情熱を持ち続けることの重要性を学びました。研究者としての成長を温かく見守って下さった皆様に厚く御礼申し上げます。今回の受賞を励みに、独創的な基礎医学研究を展開し、世界最先端の研究成果を出していけるよう一層精進したいと考えております。

○ 受賞テーマ

「新規なヒト遺伝性疾患モデルとしてのキンギョのゲノム解析基盤の確立と表現型の原因となる分子メカニズムの解明」

○ 研究の概要と将来展望

　近年、ゼブラフィッシュやメダカなどの小型魚類を用いたヒト遺伝性疾患の発症メカニズムの解明が進んできた。一方で、ゼブラフィッシュやメダカなどの小型魚類では、採取されるサンプル量が限られることや、手術等の介入的な実験手技を行う研究に関して不利な側面があり、新規の中型魚類モデル生物が望まれていた。キンギョはゼブラフィッシュと同じコイ科の硬骨魚類であり、ゼブラフィッシュと比較して1000倍程度のサイズを持ち、この条件を満たす脊椎動物モデルである。また、キンギョには多様な表現型を持つ品種が確立されている。その中には、網膜色素変性や骨形成異常といったヒトの疾患の病態と類似した表現型を持つものも含まれるため、キンギョがヒト遺伝性疾患の発症メカニズムの解明に役に立つことが期待される。しかし、これまでキンギョのゲノム解析は進んでおらず、遺伝子レベルでの機能解析が困難であった。そこで、キンギョの代表的な27品種を集めて、次世代シーケンサーによる全ゲノム配列解読を行った。そして、ゲノムワイド関連解析（GWAS）をキンギョの表現型の解析に応用し、「出目」、「背ビレ欠損」、「アルビノ」、「長い尾ビレ」、「ハート尾」の表現型と関連する遺伝子を同定した。例えば「出目」の表現型は、9番染色体にあるlrp2a遺伝子のナンセンス変異と関連していた。ヒトのLRP2は、両眼隔離などの多臓器奇形を示すDonnai-Barrow症候群の原因遺伝子である。lrp2a遺伝子は、細胞増殖や分化を制御するSonic hedgehog (Shh)のクリアランス受容体をコードしている。マウスやゼブラフィッシュにおいて、lrp2aの遺伝子変異により、眼球の拡大を生じることから、キンギョにおいても同様の分子メカニズムにより出目の表現型が出現すると考えられた。また、「背ビレ欠損」の表現型は、29番染色体にあるlrp6の21番目のイントロン中にある313 bpの欠失と関連することがわかった。ヒトのLRP6は、歯牙欠損症の原因遺伝子の一つである。lrp6遺伝子は、Wntの共受容体をコードしており、魚類において膜ヒレの形成を制御する。発生中のキンギョにおいて、リアルタイムPCR法によりlrp6の発現量を調べたところ、背ビレを欠損した個体は、背ビレを欠損していない個体に比べて、lrp6の発現量は有意に低かった。ゼブラフィッシュにおいてCRISPR-Cas9を用いたゲノム編集技術により、lrp6遺伝子をノックアウトしたところ、背ビレの低形成を認めた。さらにゼブラフィッシュにおいて、lrp6の下流に位置するWntシグナルの阻害因子であるdkk1を過剰発現させると、背ビレを欠損した成魚が得られた。以上より、lrp6の発現低下が背ビレ欠損の原因である可能性が示唆された。また、「アルビノ」の表現型は、２つのoca2のパラログに同時に変異が入ることで生じることがわかった。ヒトのOCA2遺伝子は、先天的な皮膚、眼などのメラニン合成の低下を主徴とする眼皮膚白皮症の原因遺伝子の一つである。

　またキンギョは、2つの近縁の祖先種の異種交配の結果、全ゲノム重複を経験している（異質四倍体化）。申請者は、キンギョの50対の染色体セットをそれぞれの祖先種に対応する25対の染色体からなる2つのサブゲノムに分割することに成功した。さらに、一方のサブゲノム（Sサブゲノム）の方が、もう一方のサブゲノム（Lサブゲノム）に比べて、遺伝子変異の蓄積が多いことや、遺伝子発現量が低いことを見出した。これらは、非対称サブゲノム進化と呼ばれる現象であり、人の利き手に例えると、右利きの場合、右手がLサブゲノムに相当し、よく使用されるため遺伝子変異が少なく保存性が高く、左手がSサブゲノムに相当し、使用頻度がより少なく機能的制約が弱いため遺伝子変異が多いと考えられる。今回、観察した5つの表現型と過去に報告された「三ツ尾」も含めると、すべての表現型において、遺伝子変異の多いSサブゲノムに変異または、遺伝子の欠失が観察された。このことから、キンギョのゲノムは、保存されたLサブゲノムと自由度の高いSサブゲノムが共存することにより、多様な遺伝子変異を保持することが可能であり、このことがキンギョの品種が多様な表現型を示す原因となっている可能性が示唆された。

　本研究により、新規なヒト遺伝性疾患モデルとしてのキンギョのゲノム解析基盤の確立と表現型の原因となる分子メカニズムの解明に道が開けた。

* 関連分野における本研究の特筆すべき点

　今回の論文で、キンギョの5つの表現型について原因遺伝子と予想される遺伝子座を同定したが、このうち２つはヒト遺伝性疾患の原因遺伝子と同一であり、このことはキンギョ品種がヒト疾患モデルとなることを示しており、これは本研究の特筆すべき点の一つである。例えば、デメキンの出目はLrp2の変異であることを発見したが、これはヒトのDonnai-Barrow症候群の変異と同一である。出目金では眼圧が上昇することで眼球拡大が起こることが知られており、ヒトの先天性緑内障との関連が報告されている。Donnai-Barrow症候群の発症メカニズムはよくわかっておらず、デメキンをモデルとして解析することで、その発症機構の解明が期待される。また、これらの知見から診断法や治療法の確立に繋がる可能性も考えられ興味深い。

　約5億年前に、脊椎動物の共通祖先が経験した2回の全ゲノム重複は、多くの重複遺伝子を獲得し、ゲノム中の遺伝子レパートリーを増大させたことにより、脊椎動物のゲノム機能の多様化と高度な体作りの主たる要因となったと考えられている。しかしながら、これまで全ゲノム重複後のゲノム進化を解析する良い研究モデルが存在せず、全ゲノム重複と表現型の進化の関連性の全体像は未解明であった。本研究の特筆すべき点は、キンギョを全ゲノム重複後のゲノム進化を解析するための新しいモデル動物として確立し、代表的な27品種の全ゲノム配列を網羅的に解読することにより、表現型の多様性と全ゲノム重複後の非対称サブゲノム進化の関連性を世界で初めて明らかにしたことである。また、代表的なモデル生物であるゼブラフィッシュと同じコイ科の属するキンギョを解析対象とすることにより、ゼブラフィッシュで培われた発生生物学の知見を、ゲノム科学や分子進化学の知見と統合した点も、特筆すべきであると考えられる。

* 本研究の将来期待される点

　キンギョの表現型には、今回解析した「出目」をはじめとした5つの表現型以外にも、網膜色素変性や骨形成異常といったヒトの疾患の病態と類似した表現型が存在する。これらの表現型を引き起こす原因遺伝子を、本研究と同様のアプローチにより同定することにより、キンギョがヒトの疾患の病態解明や新規の診断・治療法の開発に役立つ可能性が期待される。

　また、ヒトの疾患には、ダウン症やクラインフェルター症候群のように特定の染色体数が増加することで引き起こされる疾患の存在が知られている。また、最近では、複数の癌腫の進展過程において、全ゲノム重複が生じることで、有害な遺伝子変異の蓄積が促進されていることが示されている（López, et al., Nat Genet 2020）。これらの疾患は、新たに生成した重複遺伝子により遺伝子発現ネットワークに異常が生じていることが原因であると考えられる。今後、キンギョに対してシングルセルゲノミクス解析など最先端の実験手法を用いることにより、全ゲノム重複による重複遺伝子に対する変異が、どのように個々の細胞の遺伝子発現ネットワークを変化させ、個体発生や生存に影響を与えるのか明らかになることが期待される。これにより、染色体数の増加を伴うダウン症や癌などのヒトの疾患の分子病態に関する包括的な理解が可能になると考えられる。

○ 本研究に関連する代表的な原書学術論文（1編）

**Kon T**, Omori Y, Fukuta K, Wada H, Watanabe M, Chen Z, Iwasaki M, Mishina T, Matsuzaki SS, Yoshihara D, Arakawa J, Kawakami K, Toyoda A, Burgess SM, Noguchi H, Furukawa T. The genetic basis of morphological diversity in domesticated goldfish. Curr Biol., 30, 2260-2274, 2020.

○ 略歴

2014年 三重大学医学部卒業

2014年 桑名市総合医療センター初期臨床研修開始

2016年 桑名市総合医療センター初期臨床研修修了

2016年 大阪大学大学院医学系研究科入学（指導教授：古川貴久教授）

2020年 大阪大学大学院医学系研究科修了

2020年 長浜バイオ大学ゲノム機能科学研究室研究員（大森 義裕教授）

2020年 長浜バイオ大学ゲノム機能科学研究室プロジェクト特任助教（大森 義裕教授）

○ 専門分野

発生生物学、比較ゲノミクス、バイオインフォマティクス

○ 医学博士、専門医資格など

医学博士