

ゴーシェ病の原因遺伝子 *GBA* の 新たな発現調節機構を解明



国立大学法人
徳島大学



BMS
徳島大学大学院
医歯薬学
研究部

徳島大学 大学院医歯薬学研究部歯学域 口腔生命科学分野の三好圭子准教授、堀口大吾助教、徳島大学 技術支援部 蔵本技術支援部門の萩田浩子技術専門職員らと、広島女学院大学 人間生活学部 管理栄養学科の野間隆文特任教授および熊本県立大学 環境共生学部 環境共生学科 食健康環境学専攻の谷村綾子助教らの研究グループは、リソソーム代謝酵素の一つである β -グルコセレブロシダーゼ (GCCase) の遺伝情報を司る *GBA* 遺伝子の構造を詳細に解析し、新たな *GBA* 遺伝子発現調節機構があることを明らかにしました。GCCase は細胞内で種々の物質の分解と再生を行っている、リソソームという細胞小器官に存在する酵素の一つで、グルコシルセラミドという糖脂質を加水分解する酵素です。この酵素の機能が破綻すると、ライソゾーム病(指定難病 19)の一つであるゴーシェ病を発症することが知られています。これまでに、*GBA* 遺伝子の発現様式や酵素活性は細胞によって異なることが知られていましたが、その詳細な調節メカニズムはよくわかっていませんでした。本研究成果は、*GBA* 遺伝子の変異だけでは説明のできなかった、新たなゴーシェ病発症メカニズムの解明につながる重要な知見と考えられます。

本研究は、文部科学省科学研究費補助金などの支援により実施され、2022 年 7 月 13 日 18 時(日本時間)に英国科学誌「Communications Biology」にオンライン掲載されました。

【研究の背景】

細胞の中の種々の物質は「リソソーム(ライソゾーム)」と呼ばれる小器官で、常に分解し再利用されています。 β -グルコセレブロシダーゼ(以下 GCCase と略す)はそのリソソームにおける分解酵素の一つで、グルコシルセラミドという物質の分解を担っています。グルコシルセラミドはほぼすべての細胞に存在している糖脂質ですが、GCCase の働きが著しく低下すると、グルコシルセラミドが分解されずにリソソームに蓄積し、ゴーシェ病を引き起こします(図 1)。

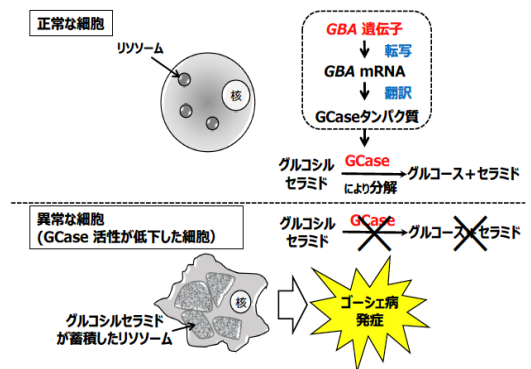


図1 研究の背景

GBA (*GBA1* ともいう) 遺伝子はこの GCCase の遺伝情報で、設計図にあたります。一般的には、設計図である遺伝子に変異があると、正常な酵素が作られず、病気を引き起こします。しかし、ゴーシェ病の場合、*GBA* 遺伝子の変異と患者さんの症状は必ずしも一致しないため、遺伝子変異以外に、GCCase の働きや量をコントロールする未知の制御機構が存在する可能性が示唆されています。

また、*GBA* 遺伝子の発現や GCCase 活性の強さは細胞の種類によって異なることが知られていましたが、その発現を制御するメカニズムの詳細は不明でした。そこで本研究では、遺伝子発現調節メカニズムの全体像を把握するために、*GBA* 遺伝子の構造を改めて解析し、新たな *GBA* 遺伝子発現調節機構を明らかにしました。

【研究成果のポイント】

- 1) GBA 遺伝子は 13 エクソンから成り、2つのプロモーター(P1 と P2)によって転写制御を受ける。
- 2) 血球分化誘導系による解析から、マクロファージへの分化誘導では、P2 プロモーター由来の mRNA の発現レベルが優位に検出される。
- 3) GCase タンパク質の産生には、Cap 依存性と Cap 非依存性・IRES 依存性の2種類のメカニズムが機能している。
- 4) 血球分化誘導系によるマクロファージ分化誘導では、GBA の偽遺伝子¹⁾である GBAP とマイクロ RNA²⁾の一つである miR22-3p の発現が逆相関していた。

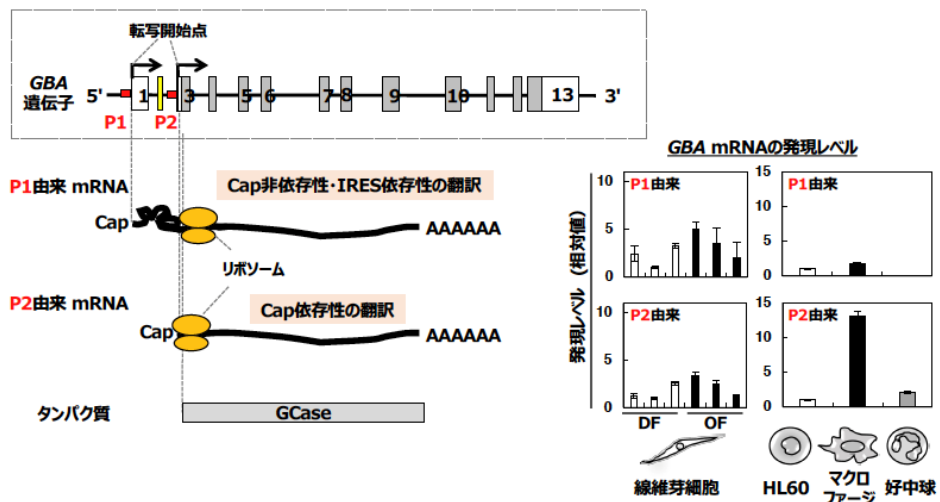


図2 研究成果の概要

(左) 遺伝子の図の説明：四角(白・グレー)、エクソン；グレー、タンパク質に翻訳される領域；黄色、新しく発見したエクソン；赤、プロモーター (P1,P2)；AAAAAA、一般的にmRNAの最後に付加されるポリA。

(右) 細胞特異的なプロモーターの選択性によるGBAmRNAの発現パターンの代表例。

【研究成果の詳細】

遺伝情報からタンパク質が作られるためには、まず遺伝情報をコードする遺伝子内のエクソンと呼ばれる設計図のコアを集めたコピーであるメッセンジャーRNA (mRNA) が作られ (転写)、そのコピーを基にタンパク質が作られます (翻訳³⁾)。この転写のスイッチを入れて mRNA 量を調節する部位をプロモーターとよび、細胞によってそのスイッチが異なる場合があることが知られています。そのため、本研究ではまず、転写開始点や mRNA のパターンを検討しました。

初めに、ヒトの皮膚線維芽細胞から全発現遺伝子の RNA を抽出し、RLM-RACE 法⁴⁾により GBA 遺伝子の転写開始点を決定しました。その結果、新しいエクソンを発見し、GBA 遺伝子は合計 13 個のエクソンからなること、および2つのプロモーター (ここでは P1、P2 と呼ぶ) が存在することを明らかにしました。そこで、GBA 遺伝子構造を見直し、新たな定義を提案しました (図2左上)。

次に、細胞の種類による2つのプロモーターの選択性を確かめるために、ヒトの皮膚線維芽細胞 (DF) や口腔粘膜線維芽細胞 (OF)、未成熟な血球系前駆細胞 (HL60 細胞) およびそれから分化誘導したマクロファージ (iMac) と好中球 (iNeu) の5種類を用いて、どちらのプロモーターによる GBA mRNA が発現しているのかを解析しました。その結果、分化誘導前の HL60 細胞に比べ iMac では P2 プロモーター由来の GBA mRNA の発現が顕著に多いことがわかりました。一方、2つの線維芽細胞では P1 プロモーター由来と P2 プロモーター由来の全ての mRNA の発現を認めました (図2右グラフ)。

また、mRNA からタンパク質が翻訳される際には、mRNA の先頭にある「キャップ (5'-cap)」を利用する場合と利用しない場合があります。これを「cap 依存性」および「cap 非依存性」とそれぞれ呼びます。そこで、2つのプロモーター由来の mRNA の翻訳について解析すると、P1 由来の mRNA には通常と異なる、cap 非依存性の IRES⁵⁾と呼ばれる翻訳機構が存在するのに対し、P2 由来 mRNA は cap 依存性であり、P1 のような IRES 活性はないことを発見しました(図 2 左下)。

さらに、GBA 遺伝子の発現を直接低下させる機能があると既に報告されていたマイクロ RNA²⁾の一つである miR22-3p と、その効果を弱める働きが示唆された GBA の偽遺伝子¹⁾である GBAP の mRNA について発現量を解析したところ、HL60 細胞と iMac では GBAP と miR22-3p が逆相関していました。

以上のことから、細胞特異的な GBA 遺伝子の発現調節は、転写・翻訳のそれぞれの段階で複合的メカニズムにより制御されていることが明らかになりました。

【研究成果の意義・今後の展望】

本研究により、2つのプロモーターによる遺伝子レベルの発現制御機構とともに、2つの翻訳開始機構の存在、すなわち、従来知られていた cap 依存性の翻訳機構と、これまで知られていなかった cap 非依存性の IRES による GBA 翻訳制御機構が存在することが明らかになりました。しかし、それらの発現機構が、どのような生理的条件下で選択され、どのように調節されているのか、また細胞特異的な調節の具体的な分子メカニズムがどのように制御されているのかは未だ不明で、今後の課題です。さらに、血球分化誘導系⁶⁾によるマクロファージ分化誘導に伴う GBAP の発現抑制の意味と GBAP の果たす機能についても検討が必要です。今回報告した GBA 遺伝子の発現調節についての複数の発見は、診断や治療方針の選択が困難なゴーシェ病の発症機序の解明において、新たな視点を提案するものと期待されます。

【用語解説】

- 1) 偽遺伝子: 偽遺伝子は DNA 塩基配列が正常な遺伝子と相同であるにもかかわらず、さまざまな理由から遺伝子としての機能を失ったもの。
- 2) マイクロ RNA: 短鎖(20~25 塩基)のノンコーディング RNA(何のタンパク質も翻訳されない RNA)。似たような配列の mRNA に対して、分解を促進する、翻訳を抑制するなどの調節を行う。
- 3) 翻訳: mRNA の遺伝情報に基づいて、リボソームという装置でアミノ酸に置換し、連結してタンパク質を合成すること。
- 4) RLM-RACE (RNA ligase-mediated rapid amplification of cDNA ends) 法: 全長 mRNA のみを鋳型として cDNA(相補鎖 DNA) を効率良く増幅できる方法。
- 5) IRES (Internal Ribosome Entry Sites): 配列内リボソーム進入部位の略。リボソームの mRNA 上へのリクルートには、本来、翻訳開始因子を必要とするが、翻訳因子にほとんど依存せず、リボソームをリクルートすることが可能な配列。
- 6) 血球分化誘導系: ヒト骨髄性白血病細胞株 HL60 は化学物質である PMA などにより貪食細胞であるマクロファージや、レチノイン酸などにより好中球に分化する細胞として知られており、*in vitro* (試験管内)で好中球やマクロファージを誘導する研究に汎用されている。

【学術誌への掲載状況】

雑誌名: Communications Biology (Springer Nature 社)

論文名: Redefining GBA gene structure unveils the ability of Cap-independent, IRES-dependent gene regulation

著者名 : Keiko Miyoshi^{1*}, Hiroko Hagita¹, Taigo Horiguchi¹, Ayako Tanimura², Takafumi Noma³ (三好圭子¹、萩田浩子¹、堀口大吾¹、谷村綾子²、野間隆文³)

1. 徳島大学 大学院医歯薬学研究部歯学域 口腔生命科学分野
2. 熊本県立大学 環境共生学部 環境共生学科 食健康環境学専攻
3. 広島女学院大学 人間生活学部 管理栄養学科

公開日時:

2022年7月13日 10:00 (日本時間 7月13日 18:00)にオンライン掲載

DOI: 10.1038/s42003-022-03577-5

【特記事項】

本研究は文部科学省科学研究費補助金(基盤(C) JP15K11041, 19K10043, 22K09913)などの支援を受けて行いました。

【問い合わせ先】

- 研究内容に関すること
徳島大学大学院医歯薬学研究部歯学域
口腔生命科学分野
准教授 三好 圭子(みよし けいこ)
電話番号 088-633-7326
メールアドレス miyoshi@tokushima-u.ac.jp
- その他本件に関すること
徳島大学蔵本事務部歯学部事務課総務係
電話番号 088-633-7302
メールアドレス isysoumu2k@tokushima-u.ac.jp