

NEWS RELEASE

ダウン症候群の人の細胞から過剰な 21 番染色体を除去

ゲノム編集技術 CRISPR-Cas9 を用いた革新的な手法の開発

- 21 番染色体が 1 本多いダウン症候群は、最も多い染色体異常疾患である
- 現在、過剰染色体を細胞から消去する技術はない
- 過剰染色体を、ゲノム編集技術 CRISPR-Cas9 を用いて、細胞から消去する基盤技術を確立
- この技術を用いて染色体本数を正常にした細胞は、その性質も正常に戻る

【概要】

三重大学大学院医学系研究科の橋詰令太郎講師(戦略的リサーチコア、ゲノム操作・解析技術開発ユニット・代表的教員)らの共同研究グループは、ダウン症候群(以下、ダウン症)の人の細胞から過剰な 21 番染色体を除去する画期的な手法を開発しました。ゲノム編集技術 CRISPR-Cas9 を用いて、3 本ある 21 番染色体のうち特定の 1 本を狙い撃ちし、最大 37.5%の頻度で過剰な染色体を除去することに成功しました。さらに、染色体が正常化された細胞では、遺伝子発現パターンなどの特性も正常に戻ることを確認しました。

本成果は、あくまでも体外における細胞レベルでの過剰染色体を消去する概念実証研究の成果です。一方で、過剰染色体を取り除くという発想と、その原理を提案できた意義があると考えられます。

【背景】

ダウン症は、21 番染色体が通常 2 本のところ、1 本過剰で計 3 本となっているトリソミーが原因で、知的発達障害などを合併します。約 700 出生に 1 人の頻度でダウン症があるとされます。心臓外科や小児外科の発展によりダウン症者の寿命は延び、現在 60 歳を超えています。寿命の延長およびその他の要因とともに、ダウン症者の総数は国際的に増加傾向にあります。現在、過剰な染色体そのものを細胞から有効に消去する技術はありません。

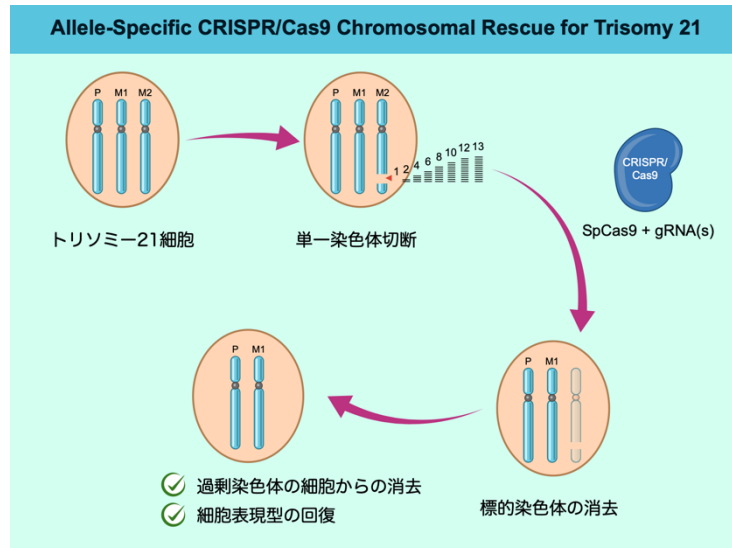
【研究内容】

研究は、ダウン症者の皮膚から線維芽細胞を採取し、iPS 細胞を樹立することから始まりました。この iPS 細胞から、染色体工学を応用して、3 本ある 21 番染色体を 1 本ずつ削除した iPS 細胞を 3 種類作出しました。これらの細胞の全ゲノムシーケンスの結果をコンピュータ処理し、単一の 21 番染色体に特有の CRISPR/Cas9 認識配列を抽出しました。

この抽出された配列情報をもとに、標的 21 番染色体を複数箇所切断する CRISPR/Cas9 システムを構築しました。このシステムを、ダウン症者 iPS 細胞に作用させることにより、最大 37.5%の頻度で標的染色体を細胞から消去することに成功しました。より詳しく調べると、染色体消去率は染色体切断数に比例すること、遺伝子修復の働きがある遺伝子の一時的な抑制で染色体消去率が上昇することを見出しました。加えて、3 本ある相同染色体の特定の 1 本を特異的に切断すること(アレル特異的切断)が、標的染色体の有効な消去にとりわけ重要である事が明らかとなりました。

染色体が消去できたとしても、これにより細胞の特性が正常化するかどうかを調べる必要があります。このアレル特異的染色体切断を引き起こす CRISPR/Cas9 システムを用いて、過剰染色体が消去された

iPS 細胞を用いて、遺伝子発現パターン、細胞増殖速度、活性酸素処理能などを詳細に調べたところ、これらの細胞特性は正常化を示しました。また、iPS 細胞以外の分化細胞(線維芽細胞)や、非分裂細胞においても、このシステムを用いて染色体が除去されることが確認されました。



【今後の展望】

この技術では、標的染色体が除去されなかった場合、当該染色体に高頻度で、欠失・挿入や逆位などの変異が導入される欠点があります。これはDNAの二本鎖切断に伴ってみられる現象です。したがって今後は、切断に依存しない方法でのより安全な染色体除去技術の構築が、細胞レベルにおいて必要と考えています。

【用語解説】

トリソミー: 特定の染色体が3本となっている染色体の構成。

iPS細胞: 人工的に作られた多能性の幹細胞。

全ゲノムシーケンス: 次世代シーケンサーを用いて、細胞のゲノムのすべての塩基配列を決定する技術。

CRISPR/Cas9: ゲノム上の任意の部位のDNA二本鎖切断を行うゲノム編集ツールで、細菌などがもともと持っている免疫システム。

【論文情報】

掲載誌: PNAS Nexus

掲載日: 2025年2月18日 午前8:30(米国東部標準時間)
(<https://academic.oup.com/pnasnexus/article-lookup/doi/10.1093/pnasnexus/pgaf022>)

論文タイトル: Trisomic rescue via allele-specific multiple chromosome cleavage using CRISPR-Cas9 in trisomy 21 cells

著者: Ryotaro Hashizume^{1,2}, Sachiko Wakita¹, Hirofumi Sawada³, Shin-ichiro Takebayashi⁴, Yasuji Kitabatake⁵, Yoshitaka Miyagawa⁶, Yoshifumi S Hirokawa⁷, Hiroshi Imai^{2,8}, and Hiroki Kurahashi⁹

所属: 1. 三重大学大学院医学系研究科 修復再生病理学
2. 三重大学医学部附属病院 ゲノム医療部
3. 三重大学大学院医学系研究科 小児科学
4. 三重大学大学院生物資源学研究科 分子細胞生物学教育研究分野
5. 大阪大学大学院医学系研究科 小児科学

6. 日本医科大学 分子遺伝学
7. 三重大学大学院医学系研究科 腫瘍病理学
8. 三重大学医学部附属病院 病理部
9. 藤田医科大学 医科学研究センター 分子遺伝学研究部門

【謝辞】

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金(16K09964, 21K06835, 24K11041)の助成を受けたものです。

(2025.2.27 一部記載を訂正)

<本件に関するお問合せ>

三重大学大学院医学系研究科 講師

修復再生病理学

橋詰 令太郎

TEL: 059-231-5009 E-mail: hashizumer@med.mie-u.ac.jp