

特集：リボソームの機能調節と疾患

II. リボソーム RNA の転写後修飾とアセンブリー

II-6 リボソーム病—リボソーム合成の異常と疾患—

剣 持 直 哉

リボソームはすべての生物に不可欠なタンパク質の合成工場である。真核生物では、4種類のRNAと79種類のタンパク質からなる巨大な複合体を形成している。最近、ダイヤモンド・ブラックファン貧血をはじめとする種々の疾患で、リボソーム合成に関わる遺伝子の変異が次々と報告され大きな関心を呼んでいる。これらはまとめてリボソーム病と呼ばれているが、広範に存在するリボソームの異常がなぜ特定の臓器や細胞にのみ影響を与えるのか、大きな謎である。p53が重要な役割を果たしていると思われるが、それだけでは説明できない。本稿では、リボソーム病の概要を解説するとともに、ダイヤモンド・ブラックファン貧血を中心に発症機構の解明に向けた最新の取り組みについて紹介する。

1. はじめに

細胞内には多数のリボソームが存在する。真核生物では、4種類のRNA (rRNA) と79種類のタンパク質 (RP) からなる巨大なRNA・タンパク質複合体 (RNP) を形成している¹⁾。リボソームの生合成はこれら構成成分のほかに、多数の因子に関わる複雑な過程を経て進行する (吉川らの項を参照)。リボソーム生合成の各ステップは厳密に制御されており、その異常は核小体にストレスを引き起こしp53経路を活性化する。その結果、細胞周期の停止やアポトーシスが誘導される。また、これが疾患の原因となる場合もある²⁾。当初、リボソームに生じた異常は胎生致死となり、疾患の原因にはなりえないと考えられてきた。しかし、1999年にダイヤモンド・ブラックファン貧血 (DBA) の患者でリボソームタンパク質S19遺伝子 (*RPS19*) に変異が発見されたことを契機に、ほかの遺伝

子にも次々と変異が同定された³⁾。現在では、造血障害を呈するほかの疾患でもリボソーム関連因子に変異が見つかり、これらはまとめてリボソーム病 (ribosomopathy) と呼ばれている⁴⁾。本稿では、リボソーム病の最新の動向と発症機構の解明に向けた取り組みなど、筆者らのゼブラフィッシュを用いたアプローチも交えて紹介する。

2. リボソーム病

これまでに報告のあったリボソーム病を表1にまとめた。前述のとおりダイヤモンド・ブラックファン貧血を皮切りに、造血異常を示す種々の疾患でリボソームの関与が明らかになっている。最近では、患者のエキソーム解析により無脾症などその他の疾患でも報告がある。ここでは各々のリボソーム病について概説するとともに、p53との関連についてもふれたい。

1) 造血不全, 骨格形成不全, 発がん性を示す疾患

ダイヤモンド・ブラックファン貧血

ダイヤモンド・ブラックファン貧血 (Diamond-Blackfan anemia: DBA) は、赤血球造血のみが障害される先天性の造血不全症である。骨髄では赤芽球系の細胞がほとんどみられず、発がんリスクも高い。また、低体重や手指の奇形を伴うこともある。これまでに11種類のRP遺伝子、

宮崎大学フロンティア科学実験総合センター (〒889-1692 宮崎市清武町木原 5200)

Ribosomopathies—Defective ribosome biogenesis and diseases—

Naoya Kenmochi (Frontier Science Research Center, University of Miyazaki, 5200 Kihara, Kiyotake, Miyazaki 889-1692, Japan)

表1 リボソーム病

疾患	責任遺伝子	機能	造血	がん	皮膚	骨格
ダイヤモンド・ブラックファン貧血	<i>RPS19</i> 他10遺伝子	リボソームタンパク質	◎	○		○
先天性角化不全症	<i>DKC1</i>	rRNAの修飾	◎	○	◎	
5q-症候群	<i>RPS14</i>	リボソームタンパク質	◎	○		
軟骨毛髪低形成	<i>RMRP</i>	5.8S rRNAの成熟	◎	○	◎	◎
シュバツハマン・ダイヤモンド症候群	<i>SBDS</i>	リボソームの生合成	◎	○		◎
T細胞急性リンパ性白血病	<i>RPL5, RPL10, RPL22</i>	リボソームタンパク質	◎	◎		◎
トリーチャー・コリンズ症候群	<i>TCOF1</i>	リボソームの生合成				◎
(新たなリボソーム病)						
isolated congenital asplenia	<i>RPSA</i>	リボソームタンパク質		無脾症, 感染症致死		
North American Indian childhood cirrhosis	<i>NOL11</i>	18S rRNAの成熟		肝硬変		

これまでに知られているリボソーム病とその責任遺伝子および病態の特徴をまとめた。最近、造血不全などの特徴を示さない新たなリボソーム病も同定された。I-3章の表1, II-1章の表1, II-5章の表1~3も参照。

RPS19 (25%), *RPL5* (6.6%), *RPS10* (6.4%), *RPL11* (4.8%), *RPL35A* (3%), *RPS26* (2.6%), *RPS24* (2%), *RPS7*, *RPS17*, *RPL15*, *RPL26* でヘテロ変異または染色体の欠失が報告されている⁵⁻⁷⁾。これはすべての患者の55% (日本人では43%) に相当する。最近、リボソームとは無関係な *GATA1* 遺伝子に変異が見つかり議論を呼んでいる⁸⁾。DBA 研究の詳細な現状については後述する。

先天性角化不全症

先天性角化不全症 (dyskeratosis congenital: DC) は、爪の萎縮、皮膚の色素沈着、粘膜の白斑症など外見上の特徴のほか、骨髄不全および腫瘍も高頻度に出現する先天性疾患である。X連鎖劣性、常染色体優性および常染色体劣性の三つの遺伝様式が知られているが、最も多いX連鎖型はディスクリン遺伝子 (*DKC1*) の変異が原因となっている⁹⁾。ディスクリンは核小体のタンパク質であり、H/ACA型の核小体低分子RNA (snoRNA) に結合し、主にrRNAのウリジン残基の異性化 (シュードウリジン化) に働く。また、テロメラーゼのRNA成分 (TERC) にも結合し、その安定化に寄与している。ディスクリンの発現を抑えたマウス (*DKC1^m*) はDCの症候をよく再現しており、rRNAのシュードウリジン化も低下している。このマウスとDC患者のポリソームが解析され、rRNAの修飾は internal ribosome entry site (IRES) を介したmRNAの翻訳に影響を与えていることが示された¹⁰⁾。

5q-症候群

5q-症候群は骨髄異形成症候群の一病型で、末梢血では大球性貧血がみられ、骨髄では単核の巨核球が増加するな

どの異常を示す。造血細胞に生じた5番染色体長腕の欠失で発症し、急性白血病へ移行する割合は10%以下と少ない。共通の欠失領域には40個の遺伝子があり、これらの遺伝子をノックダウンした結果、*RPS14* が有力な原因遺伝子として同定された¹¹⁾。正常な造血前駆細胞で*RPS14* をノックダウンすると、赤血球への分化が阻害され、18S rRNAのプロセッシングにも障害を来すことが示されている。患者の細胞でもrRNAのプロセッシングに異常がみられ、これは*RPS14* を過剰発現させることで回復した。

軟骨毛髪低形成症

軟骨毛髪低形成症 (cartilage hair hypoplasia: CHH) は、軟骨の形成不全による四肢の短縮や低身長、毛髪の異常などを主徴とし、免疫不全や大球性貧血、リンパ球減少などを伴う。リンパ腫などの発がんリスクの増大も認められる。アーミッシュの集団で確認された疾患で、原因遺伝子としてミトコンドリアのRNase MRP複合体のRNA成分をコードする遺伝子 (*RMRP*) が同定された¹²⁾。*RMRP* はrRNA前駆体の切断に関与しており、特に5.8S RNAの5'末端の成熟に必要なことが明らかになっている。

シュバツハマン・ダイヤモンド症候群

シュバツハマン・ダイヤモンド症候群 (Schwachman-Diamond syndrome: SDS) は、膵外分泌機能不全と血球減少を主徴とする疾患で、骨格異常を伴うことが多く、骨髄異形性や急性骨髄性白血病を発症する例もみられる。原因遺伝子として Schwachman-Bodian-Diamond syndrome (*SBDS*) 遺伝子が報告されており、リボソーム生合成およびrRNAのプロセッシングに関与すると考えられている¹³⁾。

最近, SBDS の酵母ホモログの解析により, このタンパク質がリボソームの 60S サブユニットに結合し, 60S と 40S 両サブユニットの会合に働くことが示された¹⁴⁾.

T 細胞急性リンパ性白血病

T 細胞急性リンパ性白血病 (T-cell acute lymphoblastic leukemia : T-ALL) は, 胸腺の T 細胞が幼若な段階で腫瘍化した白血病で, 悪性化した T 細胞が骨髓や末梢血中で異常増殖するため, 感染症や貧血, 血小板減少による出血などを引き起こす。また, リンパ系組織への浸潤によるリンパ節腫脹や肝脾腫を伴うこともある。染色体転座が多数報告されており, 転写因子の関与が明らかになっている。最近, 患者試料で *RPL22* の発現が減少していること, また *RPL22* のヘテロ欠損はマウスモデルで胸腺のリンパ腫を促進することが示された¹⁵⁾。さらに, 患者試料のエキソーム解析により, *RPL5* と *RPL10* の変異も同定されている¹⁶⁾。

トリーチャー・コリンズ症候群

トリーチャー・コリンズ症候群 (Treacher Collins syndrome : TCS) は, 顎顔面形態の不調和を特徴とする常染色体優性の先天性疾患で, 頬骨や下顎の形成不全, 垂れ下がった目, 難聴, 耳介奇形, 口蓋裂などがみられる。リボソーム DNA の転写および 18S rRNA のメチル化に働く核小体タンパク質 Treacle をコードする *TCOF1* 遺伝子に変異が同定されている¹⁷⁾。この遺伝子をハプロ不全にしたマウスモデルでは, リボソーム合成が減少するとともに, 神経外胚葉や神経堤細胞の増殖が抑制される¹⁸⁾。

2) その他の疾患

リボソーム病で特徴的な造血障害や骨格形成不全を呈しない疾患でもリボソームの関与が報告されている。isolated congenital asplenia (ICA) は, 生まれつき脾臓を欠いた疾患 (無脾症) で, その中でもほかの臓器にはまったく異常がみられない特徴的な病態を示す。患者は脾臓がないため免疫機能が低下し感染症にかかりやすくなる。最近, 患者家系のエキソーム解析が行われ, *RPSA* 遺伝子にヘテロ変異が同定された¹⁹⁾。興味深いことに, 患者はこれまで知られているリボソーム病の徴候をまったく示していない。

また, North American Indian childhood cirrhosis (NAIC) は, 小児期に胆汁性の肝硬変を引き起こす先天性の疾患であるが, リボソーム生合成に関わる *hUTP4/Cirhin* をコードする遺伝子に変異が同定された。最近, *hUTP4/Cirhin* に結合する核小体タンパク質 *NOL11* が同定され, このタンパク質は 18S rRNA の成熟に必要であること, また, *hUTP4/Cirhin* に生じた変異は *NOL11* の結合を阻害することも示され, 疾患発症への関与が推測された²⁰⁾。この疾患

も前述の ICA と同様に特徴的なリボソーム病の徴候は示さない。

3) p53 の関与

リボソーム生合成と p53 および疾患との関連が注目されている。p53 は最も代表的ながん抑制遺伝子産物であるが, 最近の研究では, 多様な生体ストレスや細胞環境の変化に応答してさまざまなシグナルを発することで細胞の運命を決定する, いわゆる「ゲートキーパー」としての役割を担っていることも明らかになってきた。p53 の分解は, ユビキチンリガーゼである MDM2 を介して制御されているが, これに結合するリボソームタンパク質が次々に同定された。これまでに, 8 種類のタンパク質, *RPL5*, *RPL11*, *RPL23*, *RPL26*, *RPS3*, *RPS7*, *RPS27*, *RPS27-like* が報告されており, MDM2 を介したリボソームタンパク質による p53 経路の制御機構が提唱されている^{2,21)}。培養細胞を用いた実験では, RNA ポリメラーゼ I (Pol I) の阻害剤でリボソーム合成を停止させると, 遊離したリボソームタンパク質が MDM2 に結合し, その結果 MDM2 のユビキチンリガーゼ活性が阻害され, これにより p53 の安定化が起こり, アポトーシスが誘導されることが示された。一方, 動物モデルを用いた実験では, リボソームタンパク質の欠損が p53 を活性化するという逆の結果も示されており, 複雑な様相を呈している²⁾。

p53 はリボソーム病の発症にも関与していると考えられる。しかし, 患者で p53 が活性化しているケースまたは抑制されているケースともに報告されており, がん化との関連も含めていろいろな議論がなされている。たとえば, 先天性角化不全症では IRES 依存的に p53 mRNA の翻訳が抑制され, これが患者の発がんリスクを上昇させている可能性が示された²²⁾。一方 5q-症候群では, 大球性貧血や赤血球形成異常を示すモデルマウスで p53 経路の活性化が起こっており, このマウスと p53 欠損マウスを掛け合わせると表現型が回復することが示された²³⁾。同様に, トリーチャー・コリンズ症候群においても, p53 の活性化が患者の臨床所見と相関していることが明らかになり, モデルマウス (*Tcof1* 遺伝子のハプロ不全) で p53 の機能を抑制すると表現型の回復がみられた²⁴⁾。

3. DBA 研究の現状

DBA は最初に同定されたリボソーム病であるため解析の基盤整備も進んでおり, 現在も数多くの研究が行われている。ここでは DBA 研究の現状について紹介する。

1) 新たな DBA 遺伝子の探索

前述のとおり, これまでに 11 種類の RP 遺伝子に変異や欠失が見つかっており, これは DBA 患者全体の 55%

を占めている。さらに、リボソーム以外で最初の例として *GATA1* にも変異が報告された⁸⁾。しかし、いまだ半数近くの患者で遺伝子の変異は同定されていない。近年、次世代シーケンサーを用いたエキソーム解析が盛んに行われ、多くの成果をあげている。DBA 患者の解析も世界各地で盛んに行われている。米国ではボストンのハーバード大学とマサチューセッツ工科大学を中心にハイスループットな解析が進んでいる。また、欧州でもイタリアを中心に患者の解析が進められており、米国のセンターとも連携して組織的な研究が行われている²⁵⁾。国内では、弘前大学の伊藤らを中心とした厚生労働省の研究班が組織され精力的な解析が進められている^{26, 27)}。伊藤らの報告によると、最近日本人の患者から *RPS27* と *RPL27* の変異が新たに同定された(米国血液学会で発表)。今後も新たな変異が見つかることが期待される。

このような成果を生み出す推進力として患者情報の組織的な管理が重要である。伊藤班では国内すべての患者の登録・解析を目指して体制作りに取り組んでいる。海外においても米国と欧州で患者の登録とデータベース化が進んでいる。米国ではニューヨークの Lipton 博士らを中心にレジストリー (Diamond Blackfan Anemia Registry : DBAR) が開設され、米国およびカナダの患者データの管理と解析を行っている。

2) 発症機構の解析

最近のエキソーム解析により新たな DBA 責任遺伝子は次々と見つかったが、発症機構についてはあまり解析が進んでいない。広範に存在するリボソームの異常がなぜ造血不全やがん化に結びつくのかいまだ大きな謎である。p53 の関与がクローズアップされているが一筋縄ではいかない。

培養細胞を用いた実験では、siRNA で DBA 遺伝子 (*RPS19*, *RPS24*, *RPL5*, *RPL11* など) をノックダウンすると rRNA のプロセッシングが阻害されることが示されている^{6, 28)}。また骨髓球系の培養細胞では、*RPS19* のノックダウンにより赤血球への分化および増殖が抑制され、細胞周期の停止やアポトーシスの誘導が起こった。また患者由来の CD34⁺細胞でも、培養を続けることでアポトーシスの亢進が認められた。いずれも同様に rRNA のプロセッシングに異常がみられた。これらの事実は DBA 発症への p53 経路の関わりを強く示唆している²⁾。

発症機構の詳細な解析のために動物モデルの開発も進められている。しかし、ノックアウトマウスの解析では、ホモ欠損で胚盤胞の形成前に致死、ヘテロ欠損でまったく異常が認められなかった²⁹⁾。その後、*Rps19* にミスセンス変異を導入したマウス (*Dsk3*) が作製されたが、DBA 患者に比べるとかなり軽微な貧血しか確認されていない³⁰⁾。ま

た、色素の沈着が異常に亢進するほかには顕著な形態の異常は観察されていない。一方、*Dsk3* と p53 変異マウスを掛け合わせるとこれらの表現型は回復した³⁰⁾。p53 経路が関与しているものと思われる。最近、DBA 遺伝子の一つ *RPS7* にヘテロ変異を持つマウス (*Mtu* および *Zma*) が、ENU (*N*-エチル-*N*-ニトロソ尿素) を用いた誘発突然変異体のスクリーニングにより得られた³¹⁾。しかし、骨格の形成異常や中枢神経系の異常を示したものの、造血にはまったく問題がみられなかった。以上述べたとおり、マウスを用いた解析はいまだ混沌としており、DBA を再現する有効なモデルの開発には至っていない。一方、ゼブラフィッシュでは筆者らを含むいくつかのグループから興味深い結果が報告されている。

4. ゼブラフィッシュ DBA モデルの解析

ゼブラフィッシュは胚が透明で観察が容易なこと、発生が短時間で細胞の分化過程もヒトと共通性が高いことから、疾患モデルとしてよく使われている。筆者らは、ゼブラフィッシュの DBA モデルを作製し発症機構の解析を行っている³²⁻³⁴⁾。DBA で最初に変異が見つかった *RPS19* 遺伝子をモルフォリノアンチセンスオリゴでノックダウンしたところ、受精後 24 時間までに脳の形成不全や体幹部の屈曲、顕著な血球数の減少が観察された。これらの表現型は、正常な *RPS19* mRNA の注入により回復するが、患者の持つ変異を含む mRNA の注入では回復しなかった(図 1)。また、形態異常の程度はほかの RP 遺伝子のノックダウン胚よりも軽いのに対し、血球数の減少は著しく、血球分化のマーカー遺伝子を用いた解析では、赤血球系細胞の成熟だけが特異的に阻害されていることも明らかになった³³⁾。

一方、p53 経路についてはほかの RP 遺伝子の場合と同様、*RPS19* をノックダウンすることで活性化された(図 2)。しかし、*RPS19* と p53 遺伝子を同時にノックダウンした場合、形態形成の異常は回復したものの、血球数の回復はみられなかった³⁴⁾。これは、培養細胞を用いた実験結果とは異なり、p53 経路とは別の経路が造血障害に関わっている可能性を示している。

最近ハーバード大学のグループが、タンパク質合成を活性化することで知られているアミノ酸のロイシンを *RPS19* のノックダウン胚に投与すると、形態異常および造血ともに回復することを報告した³⁵⁾。筆者らも別の DBA 遺伝子である *RPL35A* のノックダウン胚で同様の回復を観察した。さらに、これが p53 非依存的事であることも p53 に変異を持つゼブラフィッシュで確認した(未発表)。このことは、p53 よりむしろ翻訳活性そのものが疾患発症に重要であること、またアミノ酸の投与が DBA の有効な治療法に結びつく可能性があることを示している。

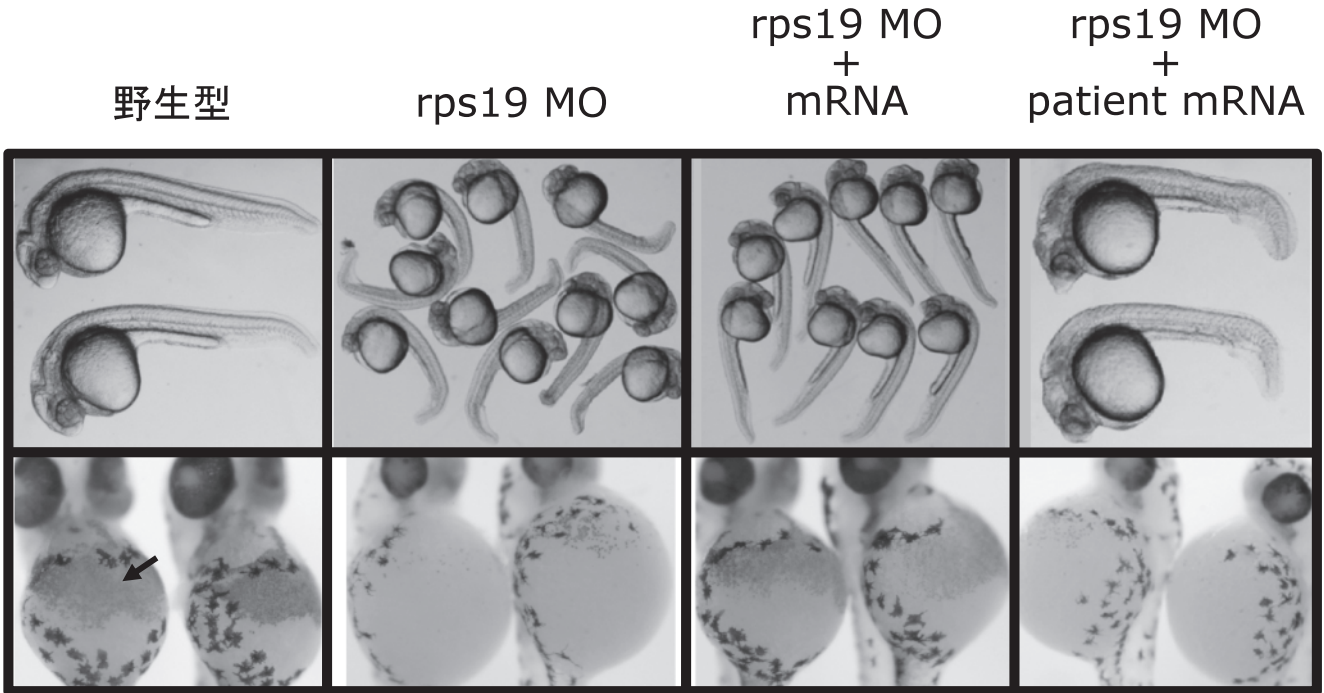


図1 ゼブラフィッシュ DBA モデルの解析

ゼブラフィッシュにおいて *rps19* 遺伝子をモルフォリノアンチセンスオリゴを用いてノックダウンしたところ、形態形成の異常および血球（矢印で示した顆粒状の斑点）の減少がみられた（*rps19* MO）。これらの表現型は *in vitro* 転写で合成した正常型の mRNA の注入により回復した（*rps19* MO+mRNA）。しかし、患者の持つ変異を導入した mRNA の注入ではそのような回復はみられなかった（*rps19* MO+patient mRNA）。上段は受精後 24 時間胚，下段はヘモグロビン染色を行った 48 時間胚。

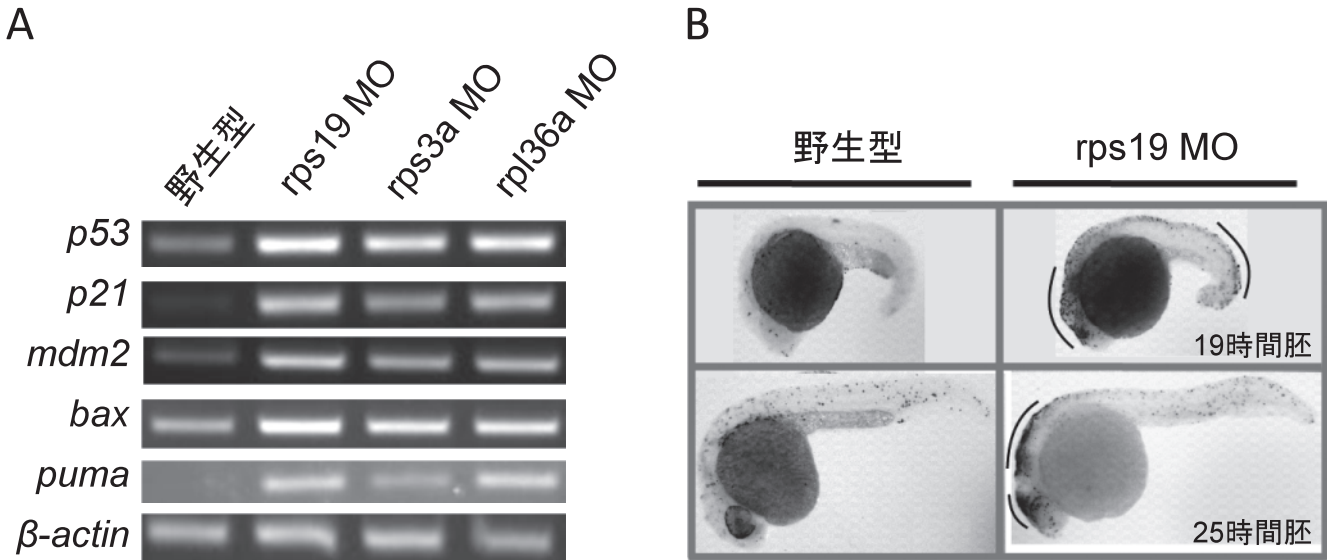


図2 p53 経路の活性化とアポトーシスの誘導

rps19 をノックダウンしたところ p53 および下流遺伝子の活性化が起こりアポトーシスが誘導された。一方、ほかの RP 遺伝子（*rps3a*, *rpl36a*）のノックダウンでも同様な活性化が認められた。p53 経路の活性化はリボソームストレスに対する一般的な応答と考えられる。（A）RT-PCR。（B）TUNEL アッセイ。

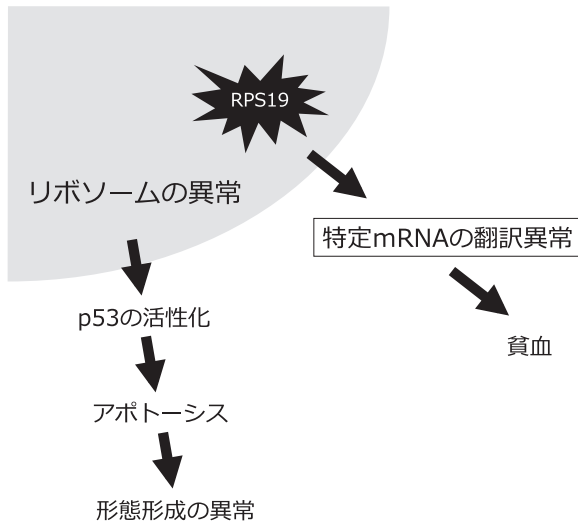


図3 リボソーム病仮説

リボソーム生合成の異常により p53 が活性化されアポトーシスが誘導される。しかし、これは核小体ストレスに対する通常の応答であるため、リボソーム病でみられる特定の病態を説明できない。そこで、リボソームによる mRNA の選択的な翻訳調節機構を仮定した。たとえば、RPS19 遺伝子の変異は造血組織で発現する mRNA の翻訳に影響を与え貧血を引き起こす。一方、その他の組織では、RPS19 に異常があっても翻訳は正常に行われあまり影響がない。

5. おわりに

広範に存在するリボソームの異常がなぜ特定の組織や細胞にのみ影響を与えるのであろうか？ これまで p53 に大きな注目が集まっていたが、p53 経路の活性化はリボソームに生じたストレスに対する通常の応答であると考えられる。我々は、一見均一に見えるリボソームも、細胞の種類により mRNA に対する親和性（選択性）が異なる可能性があると考えている。すなわち、リボソームによる選択的な翻訳調節機構が存在し、この選択性はリボソームタンパク質や RNA、さらにはリボソーム結合因子により制御されていると思われる。リボソームに生じたわずかな変異が一連の mRNA の翻訳活性に影響を与えた結果、特定の組織に障害をもたらし、貧血などの病態を引き起こしたのではないかと考えている（図3）。現在、この仮説を検証するために、ゼブラフィッシュの DBA モデルからリボソーム画分を調製し、ここに含まれる mRNA を野生型と比較することで、翻訳レベルで影響を受けた遺伝子の同定を進めている。

文 献

1) Chakraborty, A. & Kenmochi, N. (2012) Ribosomes and ribosomal proteins: more than just 'housekeeping'. In eL.S. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.

2) Chakraborty, A., Uechi, T., & Kenmochi, N. (2011) *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*, 2, 507–522.

3) Liu, J.M. & Ellis, S.R. (2006) *Blood*, 107, 4583–4588.

4) Narla, A. & Ebert, B.L. (2010) *Blood*, 115, 3196–3205.

5) Drapchinskaja, N., Gustavsson, P., Andersson, B., Pettersson, M., Willig, T.N., Dianzani, I., Ball, S., Tchernia, G., Klar, J., Matsson, H., Tentler, D., Mohandas, N., Carlsson, B., & Dahl, N. (1999) *Nat. Genet.*, 21, 169–175.

6) Doherty, L., Sheen, M.R., Vlachos, A., Choemmel, V., O'Donohue, M.F., Clinton, C., Schneider, H.E., Sieff, C.A., Newburger, P.E., Ball, S.E., Niewiadomska, E., Matysiak, M., Glader, B., Arceci, R.J., Farrar, J.E., Atsidaftos, E., Lipton, J. M., Gleizes, P.E., & Gazda, H.T. (2010) *Am. J. Hum. Genet.*, 86, 222–228.

7) Landowski, M., O'Donohue, M.F., Buros, C., Ghazvinian, R., Montel-Lehry, N., Vlachos, A., Sieff, C.A., Newburger, P.E., Niewiadomska, E., Matysiak, M., Glader, B., Atsidaftos, E., Lipton, J.M., Beggs, A.H., Gleizes, P.E., & Gazda, H.T. (2013) *Hum. Genet.* 印刷中.

8) Sankaran, V.G., Ghazvinian, R., Do, R., Thiru, P., Vergilio, J. A., Beggs, A.H., Sieff, C.A., Orkin, S.H., Nathan, D.G., Lander, E.S., & Gazda, H.T. (2012) *J. Clin. Invest.*, 122, 2439–2443.

9) Heiss, N.S., Knight, S.W., Vulliamy, T.J., Klauk, S.M., Wiemann, S., Mason, P.J., Poustka, A., & Dokal, I. (1998) *Nat. Genet.*, 19, 32–38.

10) Yoon, A., Peng, G., Brandenburger, Y., Zollo, O., Xu, W., Rego, E., & Ruggero, D. (2006) *Science*, 312, 902–906.

11) Ebert, B.L., Pretz, J., Bosco, J., Chang, C.Y., Tamayo, P., Galili, N., Raza, A., Root, D.E., Attar, E., Ellis, S.R., & Golub, T.R. (2008) *Nature*, 451, 335–339.

12) Ridanpää, M., van Eenennaam, H., Pelin, K., Chadwick, R., Johnson, C., Yuan, B., vanVenrooij, W., Pruijn, G., Salmela, R., Rockas, S., Mäkitie, O., Kaitila, I., & de la Chapelle, A. (2001) *Cell*, 104, 195–203.

13) Boocock, G.R., Morrioso, J.A., Popovic, M., Richards, N., Ellis, L., Durie, P.R., & Rommens, J.M. (2003) *Nat. Genet.*, 33, 97–101.

14) Burwick, N., Coats, S.A., Nakamura, T., & Shimamura, A. (2012) *Blood*, 120, 5143–5152.

15) Rao, S., Lee, S.Y., Gutierrez, A., Perrigou, J., Thapa, R.J., Tu, Z., Jeffers, J.R., Rhodes, M., Anderson, S., Oravec, T., Hunger, S.P., Timakhov, R.A., Zhang, R., Balachandran, S., Zambetti, G.P., Testa, J.R., Look, A.T., & Wiest, D.L. (2012) *Blood*, 120, 3764–3773.

16) De Keersmaecker, K., Atak, Z.K., Li, N., Vicente, C., Patchett, S., Girardi, T., Gianfelici, V., Geerdens, E., Clappier, E., Porcu, M., Lahortiga, I., Lucà, R., Yan, J., Hulselms, G., Vranckx, H., Vandepoel, R., Sweron, B., Jacobs, K., Mentens, N., Wlodarska, I., Cauwelier, B., Cloos, J., Soulier, J., Uytendaele, A., Bagni, C., Hassan, B.A., Vandenberghe, P., Johnson, A.W., Aerts, S., & Cools, J. (2013) *Nat. Genet.*, 45, 186–190.

17) The Treacher Collins Syndrome Collaborative Group (1996) *Nat. Genet.*, 12, 130–136.

18) Dixon, J., Jones, N.C., Sandell, L.L., Jayasinghe, S.M., Crane, J., Rey, J.P., Dixon, M.J., & Trainor, P.A. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 13403–13408.

19) Bolze, A., Mahlaoui, N., Byun, M., Turner, B., Trede, N., Ellis, S.R., Abhyankar, A., Itan, Y., Patin, E., Brebner, S., Sackstein, P., Puel, A., Picard, C., Abel, L., Quintana-Murci, L., Faust, S.N., Williams, A.P., Baretto, R., Duddridge, M., Kini,

- U., Pollard, A.J., Gaud, C., Frange, P., Orbach, D., Emile, J.F., Stephan, J.L., Sorensen, R., Plebani, A., Hammarstrom, L., Conley, M.E., Selleri, L., & Casanova, J.L. (2013) *Science*, 340, 976-978.
- 20) Freed, E.F., Prieto, J.L., McCann, K.L., McStay, B., & Baserga, S.J. (2012) *PLoS Genet.*, 8, e1002892.
- 21) Zhang, Y. & Lu, H. (2009) *Cancer Cell*, 16, 369-377.
- 22) Montanaro, L., Calienni, M., Berton, S., Rocchi, L., Sansone, P., Storci, G., Santini, D., Ceccarelli, C., Taffurelli, M., Carnicelli, D., Brigotti, M., Bonafè, M., Treré, D., & Derenzini, M. (2010) *Cancer Res.*, 70, 4767-4777.
- 23) Barlow, J.L., Drynan, L.F., Hewett, D.R., Holmes, L.R., Lorenzo-Abalde, S., Lane, A.L., Jolin, H.E., Pannell, R., Middleton, A.J., Wong, S.H., Warren, A.J., Wainscoat, J.S., Boulton, J., & McKenzie, A.N. (2010) *Nat. Med.*, 16, 59-66.
- 24) Jones, N.C., Lynn, M.L., Gaudenz, K., Sakai, D., Aoto, K., Rey, J.P., Glynn, E.F., Ellington, L., Du, C., Dixon, J., Dixon, M.J., & Trainor, P.A. (2008) *Nat. Med.*, 14, 125-133.
- 25) Boria, I., Garelli, E., Gazda, H.T., Aspesi, A., Quarello, P., Pavesi, E., Ferrante, D., Meerpohl, J.J., Kartal, M., Da Costa, L., Proust, A., Leblanc, T., Simansour, M., Dahl, N., Fröjmark, A.S., Pospisilova, D., Cmejla, R., Beggs, A.H., Sheen, M.R., Landowski, M., Buros, C.M., Clinton, C.M., Dobson, L.J., Vlachos, A., Atsidaftos, E., Lipton, J.M., Ellis, S.R., Ramenghi, U., & Dianzani, I. (2010) *Hum. Mutat.*, 31, 1269-1279.
- 26) Konno, Y., Toki, T., Tandai, S., Xu, G., Wang, R., Terui, K., Ohga, S., Hara, T., Hama, A., Kojima, S., Hasegawa, D., Kosaka, Y., Yanagisawa, R., Koike, K., Kanai, R., Imai, T., Hongo, T., Park, M.J., Sugita, K., & Ito, E. (2010) *Haematologica*, 95, 1293-1299.
- 27) Kuramitsu, M., Sato-Otsubo, A., Morio, T., Takagi, M., Toki, T., Terui, K., Wang, R., Kanno, H., Ohga, S., Ohara, A., Kojima, S., Kitoh, T., Goi, K., Kudo, K., Matsubayashi, T., Mizue, N., Ozeki, M., Masumi, A., Momose, H., Takizawa, K., Mizukami, T., Yamaguchi, K., Ogawa, S., Ito, E., & Hamaguchi, I. (2012) *Blood*, 119, 2376-2384.
- 28) Gazda, H.T., Sheen, M.R., Vlachos, A., Choemmel, V., O'Donohue, M.F., Schneider, H., Darras, N., Hasman, C., Sieff, C.A., Newburger, P.E., Ball, S.E., Niewiadomska, E., Matysiak, M., Zauha, J.M., Glader, B., Niemeyer, C., Meerpohl, J.J., Atsidaftos, E., Lipton, J.M., Gleizes, P.E., & Beggs, A.H. (2008) *Am. J. Hum. Genet.*, 83, 769-780.
- 29) Matsson, H., Davey, E.J., Draptchinskaia, N., Hamaguchi, I., Ooka, A., Levéen, P., Forsberg, E., Karlsson, S., & Dahl, N. (2004) *Mol. Cell. Biol.*, 24, 4032-4037.
- 30) McGowan, K.A., Li, J.Z., Park, C.Y., Beaudry, V., Tabor, H. K., Sabnis, A.J., Zhang, W., Fuchs, H., de Angelis, M.H., Myers, R.M., Attardi, L.D., & Barsh, G.S. (2008) *Nat. Genet.*, 40, 963-970.
- 31) Watkins-Chow, D.E., Cooke, J., Pidsley, R., Edwards, A., Slotkin, R., Leeds, K.E., Mullen, R., Baxter, L.L., Campbell, T.G., Salzer, M.C., Biondini, L., Gibney, G., Phan Dinh Tuy, F., Chelly, J., Morris, H.D., Riegler, J., Lythgoe, M.F., Arkell, R. M., Loreni, F., Flint, J., Pavan, W.J., & Keays, D.A. (2013) *PLoS Genet.*, 9, e1003094.
- 32) Uechi, T., Nakajima, Y., Nakao, A., Torihara, H., Chakraborty, A., Inoue, K., & Kenmochi, N. (2006) *PLoS ONE*, 1, e37.
- 33) Uechi, T., Nakajima, Y., Chakraborty, A., Torihara, H., Higa, S., & Kenmochi, N. (2008) *Hum. Mol. Genet.*, 17, 3204-3211.
- 34) Torihara, H., Uechi, T., Chakraborty, A., Shinya, M., Sakai, N., & Kenmochi, N. (2011) *Br. J. Haematol.*, 152, 648-654.
- 35) Payne, E.M., Virgilio, M., Narla, A., Sun, H., Levine, M., Paw, B.H., Berliner, N., Look, A.T., Ebert, B.L., & Khanna-Gupta, A. (2012) *Blood*, 120, 2214-2224.