

# 遺伝病を薬で治す

## —家族性自律神経失調症に対する低分子化合物による効果を実証—

### 概要

家族性自律神経失調症 (familial dysautonomia; FD)はアッシュケナージ系ユダヤ人種<sup>注1)</sup>で頻度が高い遺伝病で、ヘテロ保因者は約 30 人に 1 人と遺伝性疾患の中でも特に高い疾患です。ほぼすべて (99.5%以上) の FD 症例では第 9 番染色体における *IKBKAP* (*inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase complex-associated protein*) 遺伝子の変異 (IVS20+6T>C 変異) が疾患の原因になっています。この変異が存在すると *IKBKAP* 遺伝子がコードするタンパク質 (ELP1、または IKAP) の発現が低下し、特に自律神経・感覚神経の発達異常、変性、衰退により知覚や非随意運動に様々な異常をきたします。近年、疾患原因の理解が進む一方で、現在も FD に対する有効な治療法は開発されていません。

今回、京都大学大学院医学研究科 萩原正敏教授、網代将彦特定助教らの研究グループは、RECTAS と呼ばれる低分子化合物が FD で見られるスプライシング異常<sup>注2)</sup>を是正する機構を示し、iPS 細胞やマウス等の疾患モデルの解析からその治療効果を示しました。FD と同様なスプライシング異常が原因となる遺伝病は数多くあり、今後はそれら疾患への応用も期待されます。

本成果は、2021 年 7 月 23 日付 (現地時刻) で米国国際学術誌「Nature Communications」に掲載されました。

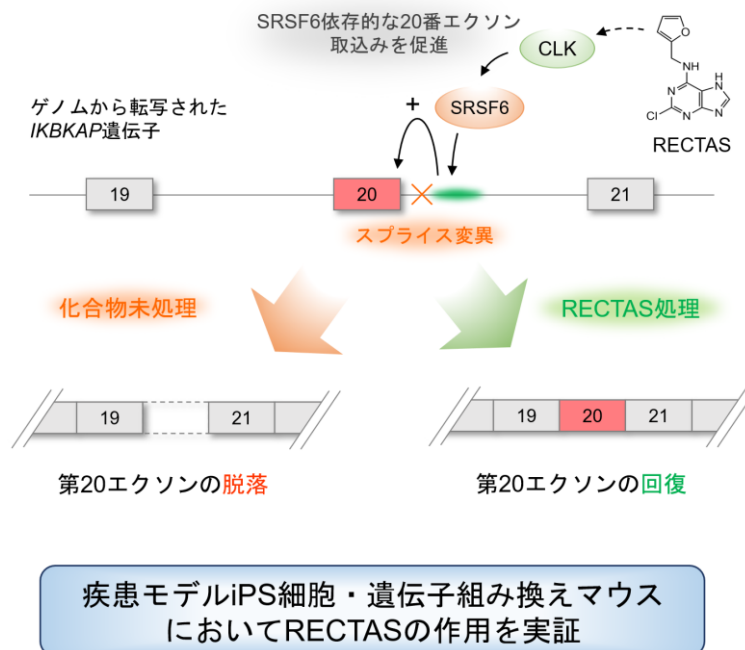


図 1. 本研究の概要図

## 1. 背景

家族性自律神経失調症 (familial dysautonomia; FD)は遺伝性感覚・自律神経系ニューロパチーIII型 (HSAN III型) としても知られ、自律神経・感覚神経の発達異常、変性、衰退により流涙の欠損、口腔運動失調、消化器の運動障害、進行性の筋委縮等の、種々の感覚障害・自律神経機能障害が生じる疾患です。FDの原因遺伝子は第9番染色体における *IKBKAP* (*inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase complex-associated protein*) 遺伝子で、その第4イントロン6塩基目のチミン (T) からシトシン (C) への点変異 (IVS20+6T>C変異) をホモ接合型で有することが99.5%以上の症例で原因となっています。同変異はアシュケナージ系ユダヤ人種<sup>注1)</sup>ではヘテロ保因者率が約30人に1人と特に高く、FDは疫学的にも同人種に局限した分布を示します。IVS20+6T>C変異が存在すると *IKBKAP* 遺伝子の第20番エクソンのスプライス制御因子 (U1snRNP) による認識が弱くなり、同エクソンの読み飛ばしが生じます。その結果、遺伝暗号翻訳の際に塩基配列の読み枠のずれが生じ、停止コドンが導入されることで *IKBKAP* 遺伝子の正常な発現が阻害されます。その結果、*IKBKAP* 遺伝子がコードするタンパク質 (ELP1、またはIKAP) の発現が低下し、その機能低下によりトランスファーRNAの機能やタンパク質合成時の正確性が低下するなど細胞機能の異常が生じることが疾患原因と考えられています。このように疾患原因の理解が近年進むものの、その一方でFDに対する有効な治療法は開発に至っていません。

## 2. 研究手法・成果

我々は、FDの原因となるスプライシング異常を抑制することが新たな治療法に結び付くと考え、*IKBKAP* 遺伝子第20エクソンの制御メカニズムの解析と、そのスプライシング異常を抑制する低分子化合物の解析を進めました。遺伝子変異周辺の配列情報をもとに関連制御因子の解析を行ったところ、スプライシング制御にかかわるRNA結合タンパク質であるserine/arginine-rich splicing factor 6 (SRSF6)がIVS20+6T>C変異の周辺RNA領域に直接結合することが分かりました。そして分子生物学的解析からSRSF6の結合が*IKBKAP* 遺伝子の正常なスプライシング制御に必須であることを見つけました。さらに、このSRSF6依存的な第20エクソンの取込みを促進する活性が低分子化合物RECTASにより認められました。RECTASによるスプライシング制御活性はSRSF6に依存しており、SRSF6の発現・機能を抑制した条件ではRECTASの活性に大幅な低下が認められました。また、RECTASはSRSF6の活性化に働くリン酸化酵素、CDC様キナーゼ (CLK)と結合し活性化制御を受けることが示唆されました。さらに、FD患者細胞から樹立したiPS細胞を末梢神経細胞に分化誘導し、FDで症状が現れる末梢神経細胞においてRECTASが治療効果を示すことを確認しました。そしてヒト変異型*IKBKAP*配列を導入した遺伝子組み換えマウスを用いた薬効解析を行い、RECTASの経口投与によりマウス感覚神経細胞において*IKBKAP*遺伝子のスプライシング異常が抑制されることを突きとめました。

## 3. 波及効果、今後の予定

今回の研究を通して、従来対症療法しか無かったFDに対してその根本原因である*IKBKAP*遺伝子のスプライス異常を標的とした低分子治療薬の開発可能性を示すことに成功しました。FDの疾患原因であるスプライス変異と同様なメカニズムで生じるスプライシング異常は他の遺伝病においても数多く知られています。そのような遺伝病における遺伝子変異の共通性に着目した疾患横断的な治療法探索は、今後の新しい創薬概念となる可能性があります。

#### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は日本学術振興会、日本医療研究開発機構による研究費を受けて実施されました。

##### <用語解説>

##### 1) アッシュケナージ系ユダヤ人種

欧州・中東諸国に祖先をもち、現在のユダヤ人種の大部分を占める。

##### 2) スプライシング異常

遺伝子発現の過程において、ゲノム DNA から転写された RNA は細胞核の中で様々なプロセッシングを受けてメッセンジャーRNA になります。スプライシングもそのようなプロセッシングの一つであり、エクソン配列と呼ばれる特定の RNA 配列同士をつなぎ合わせるとともに、それらエクソン配列の間にあるイントロン配列を排除します。そのようなエクソン配列・イントロン配列のパターンを変えてしまう遺伝子変異はスプライシング変異として知られ、その結果生じるスプライシング異常の一部は本来の遺伝子発現を妨げることで疾患の原因となります。

##### <研究者のコメント> (網代将彦)

スプライシング変異が関連する疾患は 2,000 種類近くにおよび、そのほとんどは今も有効な治療法がない難病です。今回見出された治療法が、それら疾患の治療応用に結び付くようにさらに研究を進めて参ります。

##### <論文タイトルと著者>

タイトル：Therapeutic manipulation of *IKBKAP* mis-splicing with a small molecule to cure familial dysautonomia (低分子化合物を用いた *IKBKAP* 遺伝子スプライス異常の修正による家族性自律神経異常症の治療法)

著者：Masahiko Ajiro, Tomonari Awaya, Young Jin Kim, Kei Iida, Masatsugu Denawa, Nobuo Tanaka, Ryo Kurosawa, Shingo Matsushima, Saiko Shibata, Tetsunori Sakamoto, Rolenz Studer, Adrian R. Krainer, and Masatoshi Hagiwara

掲載誌：Nature Communications

DOI：10.1038/s41467-021-24705-5