

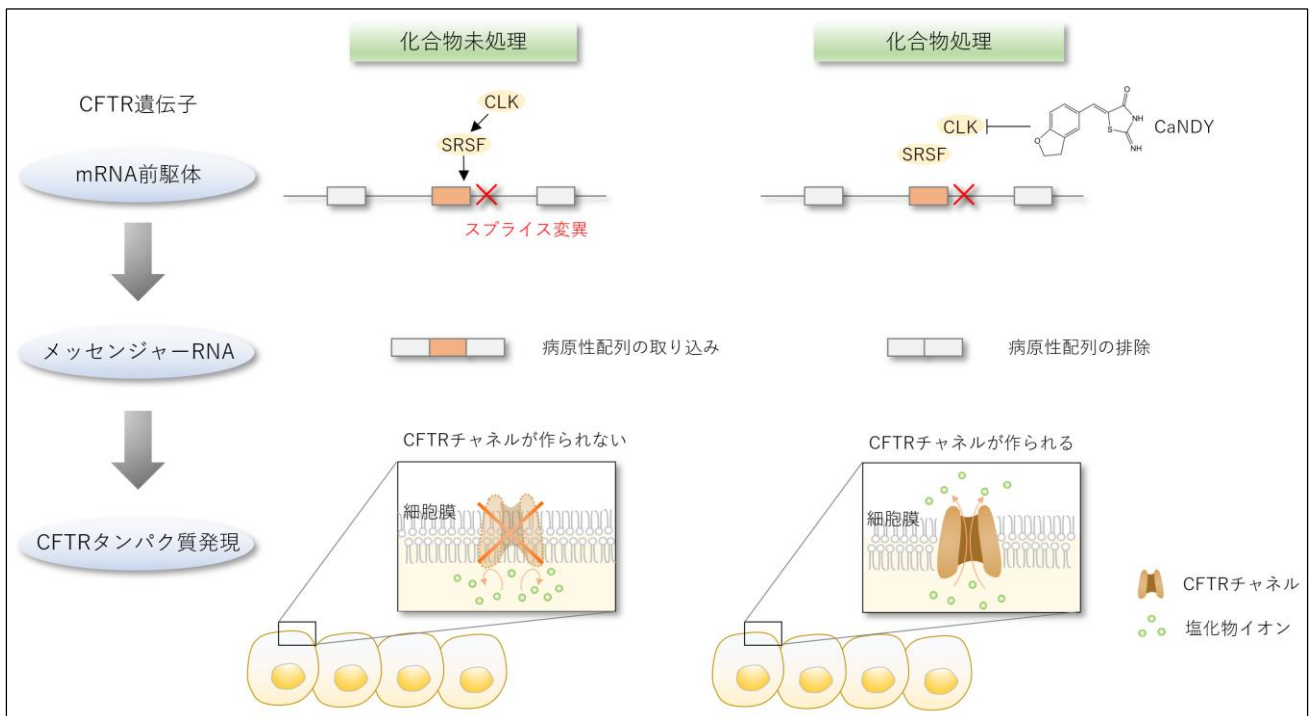
嚢胞性線維症に対する新しい治療薬を発見

～スプライス制御による難病の治療～

概要

嚢胞性線維症は塩化物イオンである CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) 遺伝子の変異によって引き起こされる遺伝病であり、欧州地域を中心に全世界で 7 万人以上の罹患者がいます。CFTR は細胞膜で塩化物イオンのチャネル（通り道）として機能しますが、同疾患では CFTR 遺伝子の変異によって機能が障害され患者体内の分泌物組成が正常に調節されなくなります。その結果気管支・消化管・膵臓などで分泌液粘性が高くなり、細菌などの排除が妨げられて感染症リスクの上昇や組織機能の低下が生じます。嚢胞性線維症のうち、スプライス変異に起因する症例では有効な治療方法がなく、疾病原因である CFTR の機能を回復させる治療法が求められています。今回、京都大学大学院医学研究科 萩原正敏 教授、網代将彦 同特定助教、柴田済子 同博士課程学生の研究グループは、嚢胞性線維症のスプライス変異でもっとも頻度が高いタイプについて分子病態メカニズムを解析し、リン酸化酵素 CLK (CDC-like kinase) を阻害する低分子化合物「CaNDY」を新しい治療薬の候補として同定しました。また、同様なメカニズムで発症する遺伝病は他に数多くあることから、本治療薬の他疾患への応用も期待されます。

本成果は、2020 年 9 月 8 日付けで米国国際学術誌である「Cell Chemical Biology」にオンライン掲載されました。



1. 背景

嚢胞性線維症は塩化物イオンである CFTR 遺伝子の変異によって引き起こされる難治疾患であり、指定難病 299 番に指定されています。全世界での罹患者は 7 万人を超え、特に欧州圏では出生約 3,000 人に一人と頻度が高い遺伝病です。CFTR は細胞膜で塩化物イオンチャンネルとして機能しますが、遺伝子の変異によってその機能が障害されることで、患者体内では細胞分泌物の組成を正常に調節することが出来なくなります。その結果、気管支・消化管・膵臓などで分泌液粘性が高くなり、細菌などの排除が妨げられることによる感染症リスクの上昇や、炎症等による組織機能の低下が生じます。

これまでは嚢胞性線維症の治療法は分泌物の除去や、消化補助剤等の対症療法による治療法しかなく、根本的な原因である CFTR の機能低下に対する治療方法はありませんでした。また、有効な遺伝子治療も嚢胞性線維症に対しては確立していません。CFTR の機能を補助する薬剤が近年上市されましたが有効性は一部の病型に限られます。特に、V 型に分類されるスプライシング変異には有効な治療法がないことが問題になっています。

遺伝子発現の過程でゲノム DNA から転写された mRNA 前駆体は、RNA スプライシングによりエクソンとエクソンがつなぎ合わされ、イントロン配列が除去されますが、スプライシング変異はこの過程に異常を生じさせることで病原性を示します。嚢胞性線維症のスプライシング変異でもっとも頻度の高い変異は c.3849+10kb C>T と呼ばれる変異型で、全症例のうち 2%未満で生じています。この変異が存在すると第 2 番イントロンの配列中に新しいエクソンが生じますが、そのエクソン配列が取り込まれることでメッセンジャー RNA の途中で終止コドンが発生し CFTR 遺伝子の発現が阻害されることで病原性を呈します。今回、本研究グループはこのスプライス変異をモデルとして病原性メカニズムと治療標的の解析を行いました。

2. 研究手法・成果

今回、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 SRSF (serine/arginine-rich splicing factor) ファミリーが周辺領域に直接結合することが分かりました。また機能喪失実験等の分子生物学的アプローチから、この SRSF ファミリーの結合がスプライシング異常に必須であることを突き止めました。さらに、リン酸化反応により SRSF ファミリー分子を活性化させることが知られる CLK を、低分子阻害剤 TG003 で阻害することにより、CFTR 遺伝子のスプライス異常に働く SRSF の機能を抑えスプライシングが正常化されることが分かりました。そこで、TG003 の類縁化合物 700 種あまりに対して、当研究グループがこれまでに開発した蛍光色素によるリポーターベクターを用いた化合物スクリーニングを行いました。その結果、スプライシング正常化の効果が特に高い治療薬の候補として「CaNDY」を選定しました。CLK ファミリーに対する酵素阻害活性を調べたところ、CaNDY は TG003 よりも CLK ファミリー全般に高い阻害活性を示し、特に CLK3 に対する阻害活性が顕著に向上していました。さらに、CaNDY の投与処理をおこなうと、スプライス変異型の CFTR の機能が正常値付近に回復することが分かりました。このことから、CaNDY は嚢胞性線維症の新しい治療薬として期待できます。

3. 波及効果、今後の予定

今回の研究から、従来対症療法しか無かったスプライス変異型の嚢胞性線維症に対して、病因である CFTR の機能不全を回復させる治療薬 CaNDY が同定されました。同様なメカニズムによるスプライス変異は嚢胞性線維症に限らず様々な遺伝性疾患においても報告されています。そのため、CaNDY はそれら疾患においても同様に治療可能性を示すことが期待されます。遺伝病発症の分子メカニズムの共通性に着目した疾患横断的な

治療法探索は従来の創薬概念を大きく変える可能性があります。

一方で、今回の病態モデルにおける治療効果を臨床応用に向けて展開するためには、CaNDY の非臨床物性を最適化するプロセスが必要になります。今後、薬物動態の改善及び安全性の検討を進めていきます。

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>

スプライス変異

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。病気の原因として知られる遺伝子変異の一部は、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ことでスプライシングに影響を与え、本来の遺伝子発現を妨げています。このようなスプライシングに影響を与える変異は、スプライス変異と呼ばれます。嚢胞性線維症において原因変異はその性質により I, II, III, IV, V, VI 型に分類されますが、スプライス変異は V 型に分類されています。

<研究者のコメント>

有効な治療法が存在しない遺伝性難治疾患のうち、我々の研究対象としているスプライス変異によると目されている疾患は 2000 以上あります。今回見つかった新しい治療薬で、遺伝性難治疾患に苦しむ患者様を救済するべく、全力で研究開発を進めて参ります。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Mechanism-based personalized medicine for cystic fibrosis by suppressing pseudo exon inclusion (偽エクソン生成を標的とした嚢胞性線維症に対する個別化医療)

著者：Saiko Shibata, Masahiko Ajiro, Masatoshi Hagiwara

掲載誌：Cell Chemical Biology DOI：https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2020.08.013