

DNA メチル化を利用したリピート病の新規治療法の開発

久米 広大

広島大学原爆放射線医科学研究所 分子疫学研究分野

【研究の背景】

リピート病は遺伝子の塩基繰り返し配列の伸長を原因とする遺伝性疾患である¹⁾。その多くが神経変性疾患であり、病態の分子メカニズムは未解明であり、根本治療法は無い。近年、ロングリードシーケンサーが用いられるようになり、新規のリピート病の報告が相次いでいる。今後も未同定のリピート病が明らかとなり、リピート病に対する治療法の開発は益々重要になると考える。リピート病の病態の一つとしてリピートが伸長した RNA の凝集や異常タンパク質の産生と考えられている。そのため、遺伝子発現量を低下させる戦略が治療法の一つとして考えられる。また、リピート病の一部ではリピート周囲の DNA メチル化が亢進し、遺伝子発現量が低下することが知られている²⁾。

ところで、我々は家族性筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis; ALS) の家系より新規原因リピート伸長を同定した。家系内の患者及び非発症者より iPS 細胞を作製し運動神経に分化させることに成功しており、RNA 凝集を認めることを確認している。

【目 的】

本研究ではリピート周囲の DNA メチル化を誘導することがリピート病の新規治療法となりうるかを我々が同定した ALS の新規原因遺伝子を対象として検討する。

【方 法】

家系内の ALS 患者及び非発症者より作製した iPS 細胞を脊髄運動神経に分化させ解析を行なった。DNA メチル化を誘導前の予備検討として、リピート周囲の DNA メチル化 (パイサルファイトシーケンス)、DNase I chromatin accesibility の評価、mRNA 発現量の評価 (定量 PCR) を行なった。

DNA のメチル化の誘導はビタミン B12、葉酸、s-アデノシルメチオニンのインキュベートおよび不活性型 Cas9 を結合した DNA メチル化酵素の導入によって行う予定である。

【結 果】

運動神経に分化後もリピート伸長を維持できていることを PCR で確認した。リピート下流部の DNA メチル化は、非発症者の iPS 細胞由来運動神経で亢進していた。DNA メチル化の亢進に一致して、DNase I chromatin accesibility および mRNA 発現量は低下していた。

【考 察】

非発症者の iPS 細胞由来脊髄運動神経のリピート周囲 DNA メチル化に亢進し、DNase I chromatin accesibility および mRNA 発現量の低下を認めていたことから、DNA メチル化が疾患発症抑制に関与している可能性が示唆された。今後、発

症者由来の脊髄運動神経でリピート周囲の DNA メチル化を誘導することで、リピートの毒性が軽減できるかを検討したい。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究により、ALS の新規原因遺伝子のリピート周囲の DNA メチルを誘導することが治療法となりうることが示唆された。非発症者で DNA メチル化の亢進が自然に起こっていることから、他の遺伝子で見られるようにリピート伸長が DNA メチル化を亢進させる機序が働いていると考えられる。そうであれば、DNA メチル化が亢進していない発症者においてもメチル化を起こしやすい状態にあり、ビタミン B12、葉酸、s-アデノシルメチオニンなどの DNA メチル化に必要な補酵素の補充で容易に DNA メチル化を誘導できるのではないかと考えている。これらの補酵素は比較的的安全性に人に投与しやすいため、治療薬として有望な候補となると考えられる。また、不活性型 Cas9 を結合した DNA メチル化酵素による DNA メチル化誘導も今後試みる予定である。これらにより、DNA メチル化が誘導できれば、本研究対象の遺伝子だけでなく、他の多くのリピート病の原因遺伝子に対しても適応可能と考える。

【参考・引用文献】

1. Am J Hum Genet. 2021 May 6;108(5):764-785.
2. Biomolecules. 2021 Feb 16;11(2):296.