

ハンチントン病の原因遺伝子に対する特異的な発現抑制

—テラーメイド医療への道筋を開く—

国立精神・神経医療研究センター神経研究所（北條浩彦室長ら）、および国立病院機構大牟田病院の共同研究チームは、未だ根本的治療法が確立されていない難治性の神経変性疾患であるハンチントン病に対して、個人識別で用いられる一塩基多型^{*1} (single nucleotide polymorphism: SNP) を目印にした RNA 干渉^{*2} (RNA interference: RNAi) 法によって、ハンチントン病の原因遺伝子の特異的に抑制することに成功しました。さらに、その目印となる SNP 部位を短時間で決定する新しい方法も開発しました。これらの研究成果は、米国科学アカデミー紀要 [Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)] で発表されました(2010年11月22日)。

<研究の背景と研究成果の概要>

ハンチントン病は、不随意運動や認知症を主症状とする慢性進行性の神経変性疾患であり、優性の遺伝性疾患でもある。原因遺伝子は第4染色体に存在するハンチンチン遺伝子 (Huntingtin gene) で、その遺伝子がコードする3塩基 (CAG) くり返し配列が異常伸長(増幅)することで発症することが知られている。このような3塩基のくり返し配列が異常に増幅することによって発病する疾患を総称してトリプレットリピート病^{*3} と呼び、現在、それらに対する根本的治療法は未だ確立されていません。ハンチントン病の場合、異常くり返し配列に起因する変異型ハンチンチンタンパク質の不溶化・凝集化が神経変性の本態であると考えられています。したがって、治療戦略的には病因遺伝子産物の除去または特異的な発現抑制が根本的治療につながると考えられます。そこで研究チームは、安全な治療法を目指して、正常なハンチンチン遺伝子の発現を残したままで病気の原因となる変異型ハンチンチン遺伝子だけを特異的に抑制する研究を実施しました。そして、個人識別で使われる SNP を目印に病気の原因遺伝子と正常遺伝子を分けて(識別して)、病気の原因遺伝子だけを特異的に抑制する RNA 干渉に成功しました(図1, 2)。また、目印となる SNP 塩基を決定するのに数週間もかかっていた従来の方法に対して、研究チームはわずか数時間で決定できる新しい方法も開発しました(図3)。これらの方法は、ハンチントン病だけに限らずその他のトリプレットリピート病にも応用可能であることを示しました。

<研究成果の意義と今後の課題>

今回の研究成果の意義は、患者毎に異なる疾患原因遺伝子上の SNP 塩基を新しい目印に RNA 干渉を誘導し、その特異的な発現抑制を実証したこと、そして、その目印となる SNP 塩基を短時間で決定できる新しい方法を開発し、新しい診断法につながる情報を提供したことにあります。これらによって、今まで治療手段がなかったハンチントン病やその他のトリプレットリピート病に対して患者毎に対応したテラーメイド医療への道筋が開かれたと思います。ただし、これらの技術を使って実際の治療を開始するためには、病気の症状を

改善しうる RNA 干渉誘導剤の用量や投与時期、その輸送方法、そしてそれらの安全性についての十分な検討が今後必要です。

<参考図>

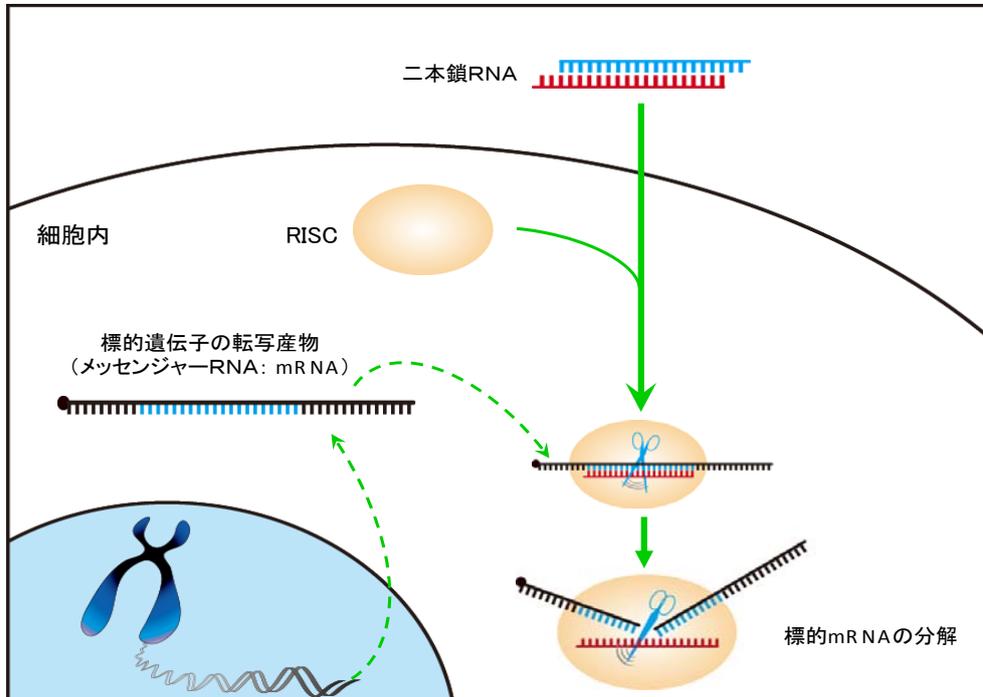


図1 RNA 干渉の概略図

小さい二本鎖 RNA (約 21 ~ 25 塩基対) によって誘導される配列特異的な遺伝子発現の転写後抑制現象。二本鎖 RNA の内、片方の RNA 鎖 (図の中で赤で示す RNA 鎖) が RISC と呼ばれるタンパク質複合体に取込まれ、その取込まれた RNA 鎖の塩基配列と相補的なメッセンジャーRNA (遺伝子転写産物) を RISC が認識し、特異的に切断する。

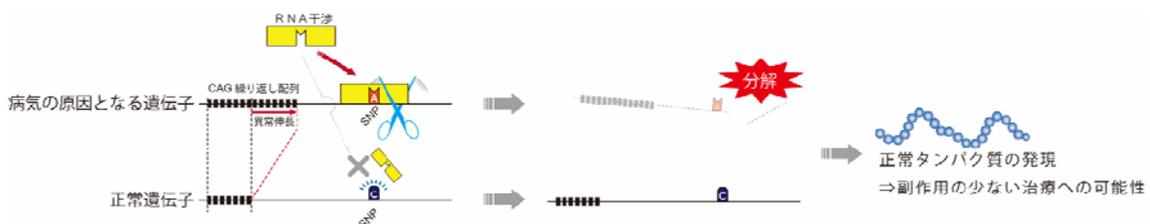


図2 SNP 塩基を目印にした疾患原因遺伝子特異的 RNA 干渉

CAG くり返し配列は病気の原因遺伝子だけでなく正常遺伝子にも存在している。そのため、疾患原因遺伝子特異的 RNA 干渉のターゲットには不適合であり、新しいターゲット (目印) 候補が必要となる。病気の原因遺伝子上にある特異的な SNP 塩基を目印に RNA 干渉を誘導した場合、正常遺伝子の発現を維持したままで疾患原因遺伝子だけを抑制することができる。

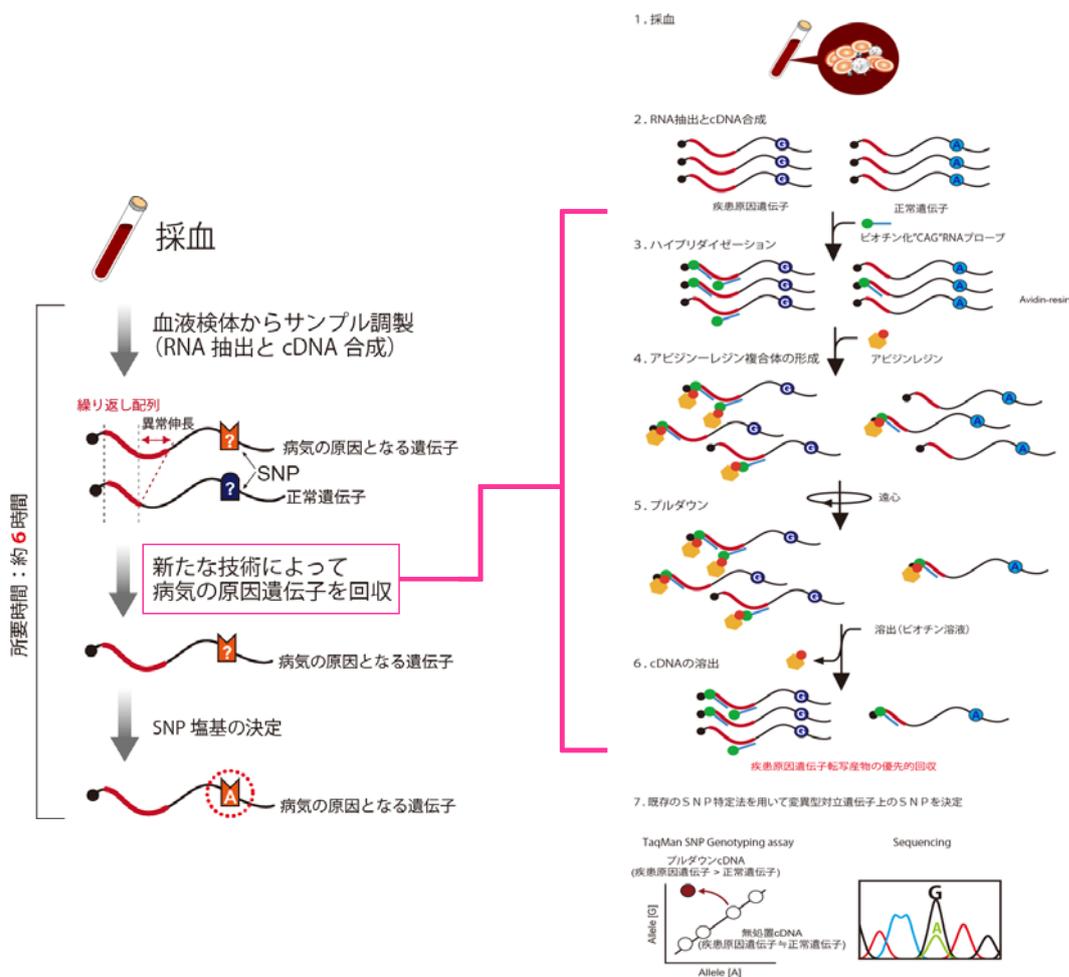


図3 特異的な SNP 塩基を決定する新しい方法

異常伸長した CAG くり返し配列を持った疾患原因遺伝子 cDNA を優先的に回収する方法。患者サンプル（末梢血サンプルなど）から抽出した RNA を鋳型に cDNA を合成し、ビオチン標識した CAG リピート RNA プローブとハイブリダイゼーションを行う。アビジン標識した樹脂ビーズを用いてビオチン化 RNA プローブと結合した cDNA を回収する。この方法によって回収された cDNA の中には異常伸長した 3 塩基くり返し配列を持った原因遺伝子由来の cDNA が偏って存在する。したがって、回収した cDNA を用いて SNP タイピングや変異解析を行うことで原因遺伝子の特徴を知ることができる。

< 発表論文 >

Takahashi M., Watanabe S., Murata M., Furuya H., Kanazawa I., Wada K., and Hohjoh H. (2010) Tailor-made RNAi knockdown against triplet repeat disease-causing alleles. *Proc Natl Acad Sci USA.*, **107**: 21731-21736.

<問合せ先>

北條浩彦（ほうじょう ひろひこ）

国立精神・神経医療研究センター神経研究所 神経薬理研究部 室長

Tel : 042-341-2711 （内 5951）

Fax : 042-346-1755

E-mail: hohjohh@ncnp. go. jp

<用語の説明>

※1 一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) :

一塩基の変異であり、ゲノム塩基配列上で見つかるその様な一塩基の変異が、集団内で1%以上の頻度をもって存在しているものを一塩基多型と呼ぶ。ヒトゲノム塩基配列上には多数の SNP が存在し、それらを指標に個人ごとの遺伝的背景を調べることができる。例えば、病気の遺伝子と関連する SNP などが知られている。

※2 RNA 干渉 (RNA interference, RNAi) (図1) :

約21～25塩基対の二本鎖RNAによって誘導される配列特異的な遺伝子発現の転写後抑制現象。二本鎖RNAの内の片方のRNA鎖がRISCと呼ばれるタンパク質複合体に取込まれ、その取込まれたRNA鎖の塩基配列と相補的なメッセンジャーRNA（遺伝子転写産物）をRISCが特異的に切断する。今日、任意の遺伝子に対して簡単にRNAiを誘導することができるようになり、基礎研究分野においては簡便な遺伝子発現抑制方法として一般的なツール（手法）となっている。

※3 トリプレットリピート病 :

遺伝子をコードする4種類の塩基（G、グアニン；A、アデニン；T、チミン；C、シトシン）のうち、3塩基のくり返し配列が異常増幅（伸長）することが起因となって発症する遺伝性疾患の総称。ハンチントン病、筋強直性ジストロフィー、脊髄小脳変性症などの優性遺伝性神経筋疾患などがその例である。