

Press Release

プレスリリース

報道解禁：6月2日 18時（新聞：6月3日付朝刊）

この資料は、兵庫県教育委員会記者クラブ、神戸民放記者クラブ、大阪科学・大学記者クラブ、熊本県内報道機関に配信しています。

2020年6月2日

国立大学法人 神戸大学
国立大学法人 熊本大学
国立研究開発法人 日本医療研究開発機構

アルポート症候群に対する核酸医薬を用いた新規治療法開発

—難治性遺伝性腎疾患モデル動物に著効することを確認—

神戸大学大学院医学研究科内科系講座小児科学分野の野津寛大特命教授、山村智彦助教、松尾雅文前教授、飯島一誠教授ら、同医療情報部の高岡裕准教授および、熊本大学の甲斐広文教授ら、理化学研究所の高里実チームリーダーらのグループが、第一三共株式会社との共同研究で、これまで治療法がなくほとんどの患者が進行して腎不全を発症する難治性の腎疾患を呈するアルポート症候群に対し、核酸医薬^{*1}を用いた特異的治療法としてエクソンスキッピング療法の開発を行い、同療法が疾患モデル動物において著効することを明らかにしました。

研究成果は、2020年6月2日（現地時間）に、国際科学誌「*Nature Communications*」にオンライン公開される予定です。

ポイント

- ✓ アルポート症候群は腎炎、難聴、目の合併症（円錐水晶体や白内障など）を伴う遺伝性の疾患で、そのほとんどがX染色体連鎖型^{*2}の疾患であるため、特に男性で重症の症状を呈する。
- ✓ 具体的には男性患者では40歳までに90%が腎不全になり、透析や腎臓移植などの腎代替療法が必要になる。また、特にアルポート症候群の原因遺伝子であるCOL4A5に重症型の変異（ナンセンス変異^{*3}など）を有する場合は重症で、20歳代前半で末期腎不全に進行することが知られている。
- ✓ 本研究チームは、重症型の変異を有するアルポート症候群患者に対する、核酸医薬を用いたエクソンスキッピング療法により、軽症型の変異に置換する治療法を開発した。
- ✓ 本治療法により、疾患モデルマウスで腎機能悪化を抑制し、生存期間も著明に延長させることができ、疾患モデルマウスの腎不全進行に対して著効することを証明した。
- ✓ この研究成果は、現在まで根治療法の無いアルポート症候群に対する、世界で初めての特異的治療法の開発に大きく貢献することが期待できる。

研究の背景

アルポート症候群は常染色体優性多発性嚢胞腎（ADPKD）に次いで 2 番目に発症頻度の高い遺伝性腎疾患で、海外からは発症頻度は 5,000 人から 10,000 人に 1 人と報告されています。しばしば腎不全へと進行する腎症、難聴、眼合併症を特徴とし、その遺伝形式には X 染色体連鎖型、常染色体優性、常染色体劣性の 3 つの遺伝様式がありますが、約 80% が X 染色体連鎖型です。X 染色体連鎖型アルポート症候群（XLAS）は、男性患者で特に重症化しやすく、男性患者の約 90% が 40 歳までに末期腎不全へと進行しますが、これまで疾患特異的治療法は存在しません。4 型コラーゲン $\alpha 5$ 鎖（ $\alpha 5$ (IV)）をコードする遺伝子 *COL4A5* 遺伝子の異常により発症するため、男性患者においては腎臓に $\alpha 5$ (IV) タンパクの発現を一切認めません。XLAS 男性患者が *COL4A5* 遺伝子にナンセンス変異等の重症型の変異を有する場合、ミスセンス変異などの軽症型の変異を有する場合に比較し、15 年以上腎不全進行が早いことが知られています。つまり、本疾患においては、重症型変異を軽症型変異に置換することができれば軽症化が可能と考えられました。

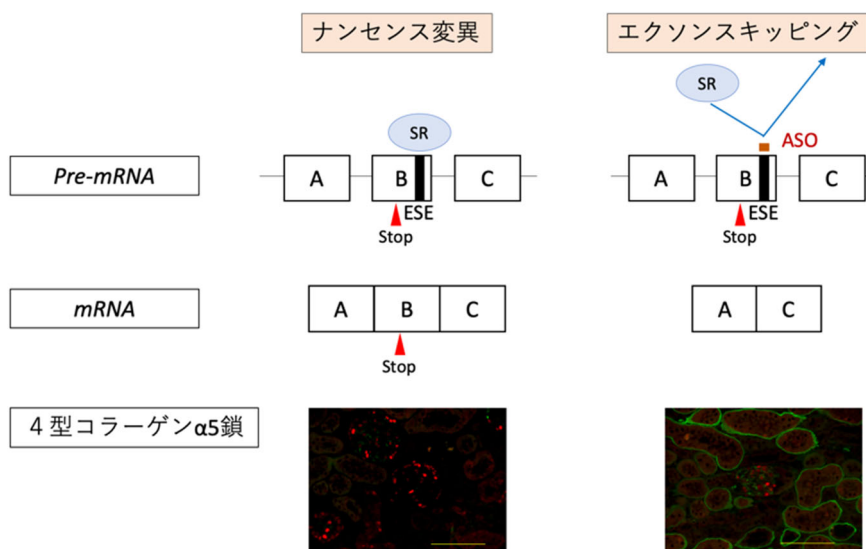
研究の内容

本研究チームは核酸医薬（アンチセンス核酸；ASO^{*4}）を用いて重症型変異を軽症型変異に置換する、エクソンスキッピング療法の開発に着手しました（図 1）。ASO を用いた治療は近年注目されており、脊髄性筋萎縮症およびデュシャンヌ型筋ジストロフィーなどの難治性の遺伝性疾患に対してすでに臨床応用され、非常に注目されています。

XLAS は、腎臓の糸球体基底膜を構成する最も重要なタンパクである $\alpha 5$ (IV) をコードする遺伝子 *COL4A5* に変異を有することで、異常な $\alpha 5$ (IV) が産生されることで発症します。特に *COL4A5* にナンセンス変異等の重症型の遺伝子変異を認める場合は 20 歳代前半までに末期腎不全へと進行します。一方、3 の倍数の塩基数の欠失（in-frame 変異^{*5}）を認める場合は軽症型となり、およそ 10 年間末期腎不全進行年齢が遅延することを野津特命教授らは過去に報告しています。そのため、ASO を用いたエクソンスキッピング療法により、重症型変異を軽症型変異（in-frame 変異）へと置換することで軽症化が可能になると考えられました。

アルポート症候群の原因遺伝子である *COL4A5* 遺伝子は、ほとんどのエクソン^{*6} が 3 の倍数の塩基数で構成されています。そのため、それらのエクソンにナンセンス変異を有する場合、そのエクソンをスキッピングさせる、つまり、変異が存在するエクソン部分がスプライシングによって除かれ

図 1 エクソンスキッピング療法作用機序



るようにすることにより 3 の倍数の変異 (in-frame 変異) へと置換することが可能です。

具体的な ASO によるエクソンスキッピング療法の作用機序に関して図 1 に示します。ナンセンス変異を有する場合、メッセージャーRNA⁷ (mRNA) においてもナンセンス変異が残存するため、不完全なタンパクが産生されます。その結果、腎臓において $\alpha 5(IV)$ タンパクの発現を認めません (図 1 左、腎臓において $\alpha 5(IV)$ タンパクを示す緑のシグナルを全く認めない)。一方、ASO を用いたエクソンスキッピング療法を行うことで、pre-mRNA において、ASO が Exonic splicing enhancer (ESE) 領域に結合し、エクソンに対する SR タンパク⁸ の結合がブロックされます。SR タンパクの結合はエクソンとして認識されるための重要な作業であり、それがブロックされることでエクソンのスキッピングが誘導されます。これにより、ナンセンス変異を有さない mRNA が産生されます (図 1 右)。実際、*COL4A5* のナンセンス変異を有するマウスモデルに同治療法を行ったところ、腎臓において、 $\alpha 5(IV)$ タンパクの発現が確認されました (図 1 右下、緑のシグナル)。また、同療法により、ASO 治療群では尿タンパクの漏出を生理食塩水投与 (Vehicle) 群に比較して有意に抑制し (図 2)、腎機能障害の進行 (血清クレアチニン値の上昇) も抑制しました (図 3)。さらに生存期間を著明に延長させることに成功しました (図 4)。これらの結果に加え、腎病理組織学的にも腎障害の進行を著明に抑制できました。

以上からエクソンスキッピング療法は重症の遺伝子変異を有するアルポート症候群モデルマウスに対して著効することが証明されました。

図 2 エクソンスキッピング療法の尿蛋白量への影響

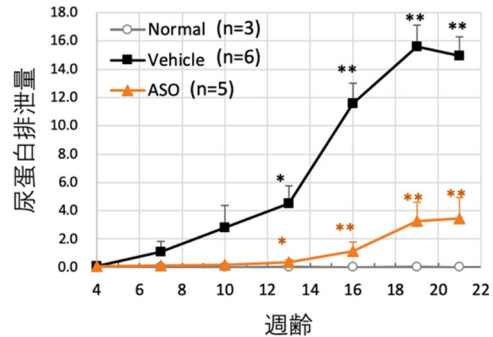


図 3 エクソンスキッピング療法の腎機能への影響

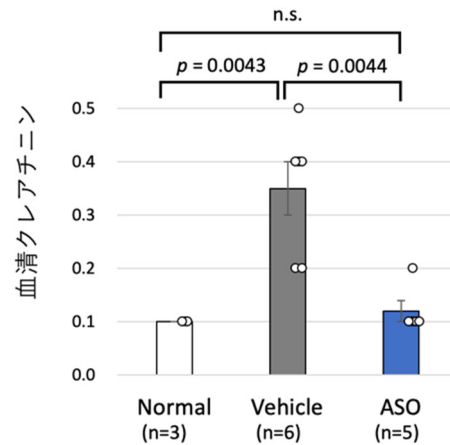
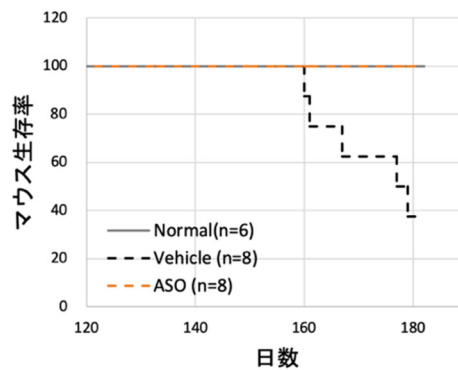


図 4 エクソンスキッピング療法による生存期間の延長



今後の展開

現在、モデル動物において薬剤の投与量の決定および安全性を評価する試験を進行中であり、これらの評価が終了後、患者さんに対する治験を行う予定です。

用語解説

*1 核酸医薬；核酸医薬とは、生物の遺伝情報を司る、DNA や RNA の構成成分であるヌクレオチドを基本骨格とする医薬品の総称であり、低分子医薬品、抗体医薬品に続く第3の医薬品と言われ大変注目されている。従来の医薬品では治療が難しかった疾患を根治する可能性を秘めた、次代の医療を支える医薬品として期待されている。

*2 X染色体連鎖型遺伝性疾患；X染色体上にコードされている遺伝子の異常により発症する遺伝性疾患。男性はX染色体が1本のみであるため、2本保持している女性に比較し重症の臨床像を呈することを特徴とする。

*3 ナンセンス変異；遺伝子上の塩基配列の異常（遺伝子変異）のうち、ストップコドンが形成される変異をさす。その場合、ナンセンス変異を有する場所で産生されるタンパクが途切れるため、不完全なタンパクが産生される。一方、同じ遺伝子変異でもミスセンス変異といわれる変異は一つのアミノ酸が他のアミノ酸に置換されるため異常な蛋白が産生されるが、タンパクは途切れず、全長産生される。そのため、XLASにおいてはナンセンス変異を有する場合は最重症の臨床像を呈する。

*4 in-frame 変異；3つの塩基毎に1つのアミノ酸がコードされている。そのため3で割り切れる塩基数の欠失変異では、それに対応するアミノ酸の欠失を認めるが、その後の配列は正常と同じである。このように、欠失の後の変異が正常のアミノ酸配列と同じとなる変異を in-frame 変異と呼ぶ。XLASにおいてはこのような変異はナンセンス変異より明らかに軽症である。

*5 アンチセンス核酸（ASO）；核酸医薬の中でも、標的とするメッセンジャーRNA（*7で解説）に存在する核酸の配列に対する相補的な配列をもつ核酸医薬を用いることで遺伝子の発現をコントロールすることができる。そのような核酸の配列を有する核酸医薬をアンチセンス核酸と呼ぶ。

*6 エクソン；タンパクの設計図とも言える遺伝子は塩基の決まった配列で構成されている。その中でも実際のタンパクの配列をコードしている箇所をエクソン、コードしていない箇所をイントロンと呼び、遺伝子の中でもエクソンは最も重要な部分と考えられる。

*7 メッセンジャーRNA；タンパクの設計図である遺伝子から特に重要であるエクソンの部分の配列のみを転写・スプライシングという作業を経て映し出したもの。遺伝子がタンパクの設計図としたら、メッセンジャーRNAは設計図を元に作り出した、タンパクの鋳型と言える。このメッセンジャーRNAの塩基配列に従い、各種アミノ酸が組み込まれて、タンパクが形成される。

*8 SRタンパク；メッセンジャーRNAからは転写という過程を経てプレメッセンジャーRNAが産生される。さらにスプライシングという作業を経てメッセンジャーRNAが産生される。このスプライシングの作業において、SRタンパクがエクソン部分に結合することで、エクソンがエクソンとして認識され、イントロンをとばしてエクソンによるメッセンジャーRNAが産生される。

謝辞

この研究は 2014 年 12 月、第一三共株式会社の創薬共同研究公募プログラム「TaNeDS」で採択され、同社と共同で研究開発が開始されました。また 2017 年 4 月からは国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の難病性疾患実用化研究事業・希少疾患に対する画期的な医薬品医療機器等の実用化に関する研究・薬事承認を目指すシーズ探索研究（ステップ0）の支援のもとに研究を継続して参りました。

論文情報

・タイトル

Development of an Exon skipping therapy for X-linked Alport syndrome with truncating variants in *COL4A5*

DOI : 10.1038/s41467-020-16605-x

・著者

Tomohiko Yamamura¹, Tomoko Horinouchi¹, Tomomi Adachi², Maki Terakawa², Yutaka Takaoka³, Kohei Omachi⁴, Minoru Takasato⁵, Kiyosumi Takaishi², Takao Shoji⁶, Yoshiyuki Onishi⁶, Yoshito Kanazawa⁶, Makoto Koizumi⁶, Yasuko Tomono⁷, Aki Sugano³, Akemi Shono¹, Shogo Minamikawa¹, China Nagano¹, Nana Sakakibara¹, Shinya Ishiko¹, Yuya Aoto¹, Misato Kamura⁴, Yutaka Harita⁸, Kenichiro Miura⁹, Shoichiro Kanda⁸, Naoya Morisada¹, Rini Rossanti¹, Ming Juan Ye¹, Yoshimi Nozu¹, Masafumi Matsuo¹⁰, Hirofumi Kai⁴, Kazumoto Iijima¹ and Kandai Nozu^{1*}

1. Department of Pediatrics, Kobe University Graduate School of Medicine
2. Rare Disease Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd, Shinagawa
3. Division of Medical Informatics and Bioinformatics, Kobe University Hospital
4. Department of Molecular Medicine, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University
5. RIKEN Center for Developmental Biology
6. Modality Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd, Shinagawa
7. Division of Molecular Cell Biology, Shigei Medical Research Institute
8. Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo
9. Department of Pediatric Nephrology, Tokyo Women's Medical University
10. Department of Physical Therapy, Faculty of Rehabilitation, Kobe Gakuin University

・掲載誌

Nature Communications

問い合わせ先

< 研究について >

■神戸大学大学院医学研究科内科系講座小児科学分野

特命教授 野津 寛大 (のづ かんだい)

TEL : 078-382-6090 E-mail : nozu@med.kobe-u.ac.jp

■熊本大学大学院生命科学研究部附属グローバル天然物科学研究センター

大学院薬学教育部 遺伝子機能応用学研究室

教授 甲斐 広文 (かい ひろふみ)

TEL : 096-371-4405 E-mail : hirokai@gpo.kumamoto-u.ac.jp

< 報道担当 >

■神戸大学総務部広報課

TEL : 078-803-6678 E-mail : ppr-kouhoushitsu@office.kobe-u.ac.jp

■熊本大学総務部総務課広報戦略室

TEL : 096-342-3269 E-mail : sos-koho@jimu.kumamoto-u.ac.jp

< AMED 事業に関すること >

■国立研究開発法人日本医療研究開発機構 創薬事業部創薬企画・評価課

TEL : 03- 6870-2226 Email : nambyo-r@amed.go.jp