

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：クロマチンリモデリング因子 ATRX タンパクの異常により発症する X 連鎖 $\alpha$ サラセミア/精神遅滞症候群のアミノレブリン酸による治療法の開発

2. 研究開発代表者： 和田敬仁（国立大学法人京都大学大学院 医学研究科）

3. 研究開発の成果

【背景】ATR-X 症候群は、*ATRX* 遺伝子の変異により発症する X 連鎖精神遅滞症候群の一つであり、クロマチンリモデリング蛋白 ATRX をコードしている責任遺伝子 *ATRX* の遺伝子変異により、エピジェネティクスのメカニズムが破綻し、複数の遺伝子が発現異常をきたし、重度の MR/ID および  $\alpha$  サラセミアを中心とする多彩な症状を呈する[和田敬仁、他. 脳と発達 2000]. その病態は明らかでないため治療法もなく、また、全国で 90 名弱、世界でも約 200 症例が診断されているのみである[Gibbons RJ, Wada T, et al. Hum Mut. 2008]. 現在、ATR-X ネットワークジャパンを立ち上げ、患者・ご家族と医療者の連携をとり、臨床・基礎研究に取り組んでいる。

本症候群の病態は不明の点が多いが、最近、ATRX タンパクがゲノム上の特別な構造（グアニン 4 重鎖構造：G4 構造）に結合し安定化させ、近傍の遺伝子発現に影響を与えることが明らかにされた[Law MJ, et al. Cell, 2010].

【本研究の目的】本研究は、ATRX タンパクの機能喪失型変異によって発症する ATR-X 症候群の治療薬として、G4 構造に結合し安定化させる薬剤の探索と、その投与による認知機能改善を目的としている。

### 【研究内容】

#### A. モデルマウスおよび患者由来 iPS 細胞を用いた ALA の評価

Atrx モデルマウスの認知機能に対する ALA の薬理学的効果は客観的に評価された。患者由来 iPS 細胞から分化させた神経細胞を用いた解析により、患者 iPS 細胞では G4 構造を有する遺伝子群の遺伝子発現が破綻しており、ALA により改善することが確認された。また、そのメカニズムは ALA が G4 構造に結合することにより発揮していることも示された。特に、Atrx モデルマウスの認知機能に関わると考えられるシナプス関連遺伝子 *X* が同定され、その病態解析およびヒトの疾患に対する役割を解析中である。

#### B. G4 構造に関連する遺伝子のゲノムレベルでの解析

G4 構造結合分子の一つである TMPyP4 を用いて単離したゲノム DNA から、次世代シーケンサーとマイクロアレーを用いて、ATRX タンパクが発現調節している可能性のある標的遺伝子群を探索し、G4 構造形成と疾患との関連を解析中である。また、アミノレブリン酸 (ALA) が G4 構造に結合することを分子化学生物学的手法により解析し、ALA の投与がゲノム上の G4 構造に結合することにより、その近傍の遺伝子発現を調節しているという仮説を裏付ける結果が得られた。

#### C. ALA の核内遺伝子配置に対する分子生物学的評価

3D-FISH 法を用いて、ALA 投与により発現の影響を受ける遺伝子群の核内配置への影響を解析することにより、患者への ALA 投与前後での当該遺伝子の核内配置の変化を治療効果のバイオマーカーとして用いることを期待して解析している。次年度には、患者由来 iPS 細胞から分化させた神経細胞を用いて、ALA の神経細胞への影響を解析予定である。

#### D. 臨床研究・治験に向けてへの準備

患者さんの症状改善薬としての ALA 投与に向けて、臨床研究・治験に向けてへの準備を進めている。臨床情報の収集し、自然歴の調査と効果判定基準作成を行っている。ネットワークを通して、本研究による治療法の開発を患者・ご家族との連携を図っている。将来の臨床研究・治験に向けての患者登録の準備を進めている。

【平成 28 年度以降の取り組み】本研究は、生体内に存在するアミノ酸であり、また、診断薬や健康食品としても使用されている 5-アミノレブリン酸 (ALA) を生体内でポルフィリンを産生させるプロドラッグとして、G4 構造をターゲットとした新しい薬理効果による ATR-X 症候群の症状改善薬として期待される。