

疾患抵抗性変異ゲノム編集によるアルツハイマー病予防法の開発

京都府立医科大学 循環器内科学

講師 星野 温

(共同研究者)

理化学研究所 ユニットリーダー 笹栗 弘貴

はじめに

アルツハイマー病 (AD) は認知症の最多の原因疾患で革新的治療法の開発が最も期待される疾患の一つである。最近、アミロイド仮説に基づきアミロイド β ($A\beta$) の抗体製剤がFDAで認可されたが、十分な臨床試験の結果とは言えず大きな議論となっている。この効果が不明瞭となる原因の一つとして治療開始時期の問題がある。臨床試験では軽度認知障害や病初期での投与となっているが、十分な効果を確認するにはニューロン障害が生じる前の超早期に $A\beta$ を除去、または蓄積を防ぐことが重要と考えられている。また近年、ゲノム疫学研究によりアミロイド前駆タンパク (APP) 遺伝子においてADに保護的な遺伝子多型であるA673Tが見つかり⁽¹⁾、その保護的多型をADハイリスクの人や超早期ADの患者にゲノム編集することで、発症予防、進行予防が可能となると期待される。我々はこれまでに疫学研究では評価が難しいAPP遺伝子のレアバリエーションに関して網羅的な検討から新たな保護的多型を同定し、ADの原因となる $A\beta$ の産生がA673Tでは半減するのに対して、新規多型ではほぼ消失することを明らかにした。

本研究ではADに新規の保護的多型の安全で効率の高いゲノム編集方法を確立し、ヒト化APPノックインマウス⁽²⁾で治療・予防効果の確認を行う。新規多型はABEでの塩基編集となるが、より高い精度と安全性を求めてABEの改変による編集効率の向上とバイスタンダー編集の低減に取り組む。方法としては塩基編集のレポーター細胞を準備し、全1アミノ酸変異を網羅したライブラリによるスクリーニング (Deep mutational scan) を行い、有効なアミノ酸変異の同定とそれを組み合わせた最適化を行う。AD予防に対する超早期の介入は従来の薬物治療法では長期的介入が必要で医療経済的問題も大きく、ゲノム編集を用いた疾患抵抗性変異導入による疾患予防は非常に魅力的な戦略となる。そのため本研究により保護的多型導入によるAD予防を確立することで「疾患抵抗性ゲノム編集による疾患予防」という新たなヘルスケアの概念の確立が期待される。

結果

- ① 新規保護的多型の効果: アルツハイマー病モデルマウスに保護多型をノックインしたマウスを作成し、新規多型の保護効果の確認を行った。本来は12か月齢での評価となるがまずは6週齢で事前評価を行ったところ、新規多型では可溶性分画、不溶性分画ともに $A\beta_{40}$ 、 $A\beta_{42}$ ともに減少していた (図1)。

- ② ゲノム編集方法の最適化：新規多型はABEによる塩基編集で導入可能となるため、新規多型の編集でGFPが陽性となるスクリーニング系を構築して、ABEの全1アミノ酸置換を網羅したライブラリによるスクリーニング（Deep mutational scanning: DMS）を行った。このスクリーニングにより編集能が亢進するアミノ酸置換を網羅的に同定し、さらに協調的に機能する組み合わせを探索することで塩基編集が2倍に亢進する変異体を同定した（図2）。

図1 保護多型ノックインマウスにおけるAβ 40/42の生化学的評価。

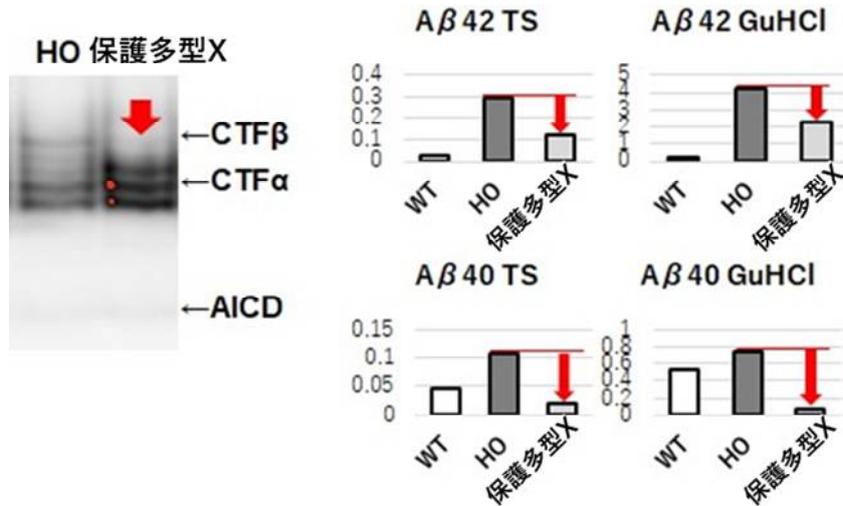
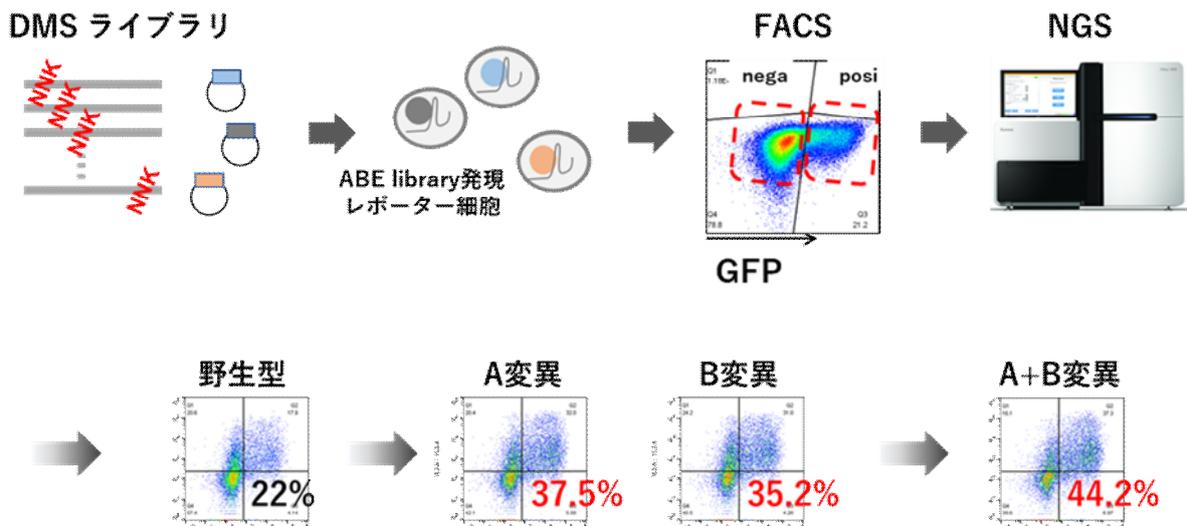


図2 ABEに対するDeep mutational scanning (DMS) の概要



考 察

事前研究において培養細胞系でAPP遺伝子の新規保護多型を同定していたが、アルツハイマー病モデルマウスでの検討において、動物個体でも保護的にはたらく可能性が示唆された。今後はより長期的な評価で検証を重ねる。また保護多型のゲノム編集を行うため塩基編集ABEの改変に成功した。今後はアデノ随伴ウイルスや脂質ナノ粒子によるmRNA送達によりゲノム編集効果の検討を進める。

要 約

全世界で4,600万人認知症患者がいるうち約半数の2,300万人がアルツハイマー病と考えられ、また毎年460万人の新しい患者が発症している。その前段階である軽度認知機能障害を含めると患者数は6,000万人にのぼるとされ、21世紀の人類が早急に克服すべき最重要課題とされている。アルツハイマー病の原因であるA β の蓄積に対して、新たにA β の産生がほぼ消失する遺伝子多型を同定した。この多型のアルツハイマー病保護効果をモデルマウスにおいてノックインマウスを作成することで動物個体でも保護的にはたらく予備データが得られた。さらにこの多型を脳組織にゲノム編集するツール開発も行い、既存の編集効率を約2倍向上するツールの開発に成功した。今後はこの編集ツールを用いたin vivoゲノム編集によるアルツハイマー病保護効果の評価を進めていく。

文 献

1. Jonsson T, Atwal JK, Steinberg S, Snaedal J, Jonsson PV, Bjornsson S, Stefansson H, Sulem P, Gudbjartsson D, Maloney J, Hoyte K, Gustafson A, Liu Y, Lu Y, Bhangale T, Graham RR, Huttenlocher J, Bjornsdottir G, Andreassen OA, Jönsson EG, Palotie A, Behrens TW, Magnusson OT, Kong A, Thorsteinsdottir U, Watts RJ, Stefansson K. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature*. 2012 Aug 2;488(7409):96-9.
2. Watamura N, Sato K, Shiihashi G, Iwasaki A, Kamano N, Takahashi M, Sekiguchi M, Mihira N, Fujioka R, Nagata K, Hashimoto S, Saito T, Ohshima T, Saido TC, Sasaguri H. An isogenic panel of App knock-in mouse models: Profiling β -secretase inhibition and endosomal abnormalities. *Sci Adv*. 2022 Jun 10;8(23):eabm6155.