

## SAMドメインを標的としたSAMMD9分子標的療法の開発

国立成育医療研究センター研究所 分子内分泌研究部・研究員 中尾 佳奈子



### 【研究の背景】

私が研究しているMIRAGE症候群は、2016年に日本から報告された先天性副腎低形成症の一病型であり、2022年現在、世界から報告された患者数は約50名の稀少疾患です。MIRAGE症候群の疾患名は6つの主要徴候（造血異常、易感染性、成長障害、先天性副腎低形成症、性腺症状、消化器症状）の頭文字に由来します。患者さんの約半数は3歳までに亡くなり、その主な死因は重症感染症です。感染症以外にも、嘔吐や慢性下痢を伴う成長障害が遷延する方や、重度の造血異常によって頻回の輸血や骨髄移植を余儀なくされる方がいます。MIRAGE症候群はSAMMD9遺伝子の機能亢進型変異によって生じますが、SAMMD9分子の機能は分かっておらず、従って分子病態に基づく治療法はありません。

私たちの研究グループでは、SAMMD9タンパク質を過剰発現させたMIRAGE症候群のモデル細胞を用いて、患者さんと同定される変異SAMMD9タンパク質の過剰発現により著明な細胞増殖抑制が生じること、およびSAMという自己会合ドメインを欠失させる、または会合を阻害する変異を組み込むと、その病原性が解除されることを見出してきました。本研究は、変異SAMMD9タンパク質の著明な細胞増殖抑制の解除またはSAMドメインの会合阻害を指標として、MIRAGE症候群の分子標的治療薬開発の第一歩となる既存薬のスクリーニングを目的として行いました。

### 【方 法】

#### 1. SAMドメイン自己会合の定量的評価系の構築

まずSAMMD9のSAMドメインにスプリット型ルシフェラーゼNanoBiTの各サブユニットを融合させた精製タンパク質（LgBiT-SAMとSmBiT-SAM）を作成します。この1組のタンパク質は、SAMドメインが自己会合したときだけルシフェラーゼ活性を生じるため、SAMドメイン自己会合の定量的評価系として利用できます。

#### 2. 化合物スクリーニングの実施

変異SAMMD9タンパク質を過剰発現するMIRAGE症候群モデル細胞と、上記のSAM-NanoBiT系の2種を用いて、東京大学創薬機構の化合物ライブラリーのうち、既存薬および既知薬理活性試薬から成るValidated Compound Libraryを利用し、モデル細胞の増殖抑制能を解除する化合物または/かつSAMドメインの自己会合を阻害する化合物の探索を行います。

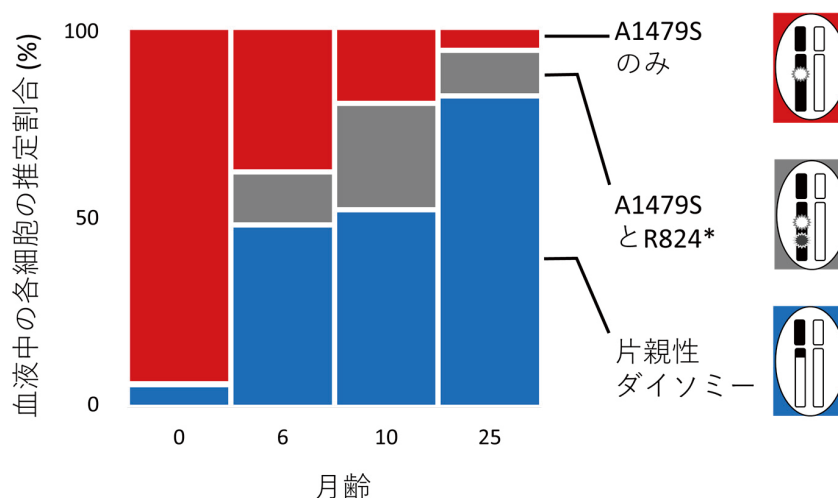
#### 3. MIRAGE症候群および関連疾患の遺伝子診断とレジストリ構築

国内外からの依頼を受け、MIRAGE症候群の遺伝子診断や、新規SAMMD9変異を同定した際の病原性評価を行います。これにより、医師間ネットワークを構築・維持し、SAMMD9分子機能制御に有効な化合物が同定されSAMMD9分子標的療法開発につながった際に、速やかに臨床治験への参画を呼びかけられる体制の礎となることを目指します。

### 【研究成果および今後の展望】

東京大学創薬機構の化合物ライブラリーから3,909化合物 2セットを申請利用し、モデル細胞を用いた検証は完了できました。変異SAM9タンパク質のもつ増殖抑制の解除効果が示唆される化合物が複数見つかかり、それらは再度利用申請を行い、再現性の確認を行うとともに、化合物名の照会を行い、SAM9分子機能解明の端緒にしたいと考えています。同時に進めていたSAM-NanoBiT系の構築にも成功しました。現在はこの系での化合物スクリーニングを進めている段階です。

また、依頼のあったMIRAGE症候群患者さんの遺伝子診断を行う中で、過去に報告のないSAM9変異 (p.Ala1479Ser) を同定し、モデル細胞を用いて著明な増殖抑制能 (病原性) を有することを確認しました。さらに、片親性ダイソミーによりSAM9変異が取り除かれた細胞が後天的に患者さんの血液細胞において生じ、約2年間の経過でSAM9変異の同定が困難になるほどその割合が増加しうることを確認しました(下図)。これはMIRAGE症候群を強く疑う患者さんでSAM9変異が見つからなくても、出生直後の検体などを用いて再度検索を行うことの重要性を提唱する発見です。この成果をまとめ、下記論文として発表しました。



### 【論文】

Kanako Tanase-Nakao, Masanobu Kawai, Kazuko Wada, Masayo Kagami, Satoshi Narumi  
Acquired uniparental disomy of chromosome 7 in a patient with MIRAGE syndrome that veiled a pathogenic SAM9 variant  
Clin Pediatr Endocrinol. 2021; 30(4):163-169.

### 【謝辞】

本研究を行うにあたり、ご支援いただきました公益財団法人難病医学研究財団、および、ご寄付をいただきました多くの皆様に心より御礼申し上げます。