

RNA編集酵素ADAR1遺伝子変異によって生じる エカルディ・グティエール症候群の病態解明



大阪大学大学院医学系研究科神経遺伝子学・助教 中濱 泰祐

背景・目的

エカルディ・グティエール症候群（AGS）は、I型インターフェロン（IFN）の異常産生を特徴とする遺伝性免疫異常疾患である。白質ジストロフィーや大脳基底核の石灰化を伴う脳症を主症状とし、生後数年以内に死亡するとされるが、現状では根治治療法は確立されておらず病態解明が急務である。これまでに、ADAR1やMDA5を含む9つの遺伝子においてAGS型変異が見つかった。ADAR1は2本鎖RNA中のアデノシンをイノシンへと置換するRNA編集酵素である。一方、MDA5はウイルス由来2本鎖RNAを感知し、IFN産生をはじめとする抗ウイルス応答を惹起する働きを持つ。最近になり、ADAR1によるRNA編集には内因性2本鎖RNAがMDA5によって異物として感知されることを回避するための目印としての機能があることが明らかになり、この機構の破綻がAGS病態の引き金となっていると考えられるようになってきた。しかしADAR1を欠損（KO）するマウスや編集活性を喪失する点変異をノックイン（KI）したマウスは胎生致死となるため、AGS型脳症の病態形成機構は未解明である。そこで申請者は、ADAR1遺伝子の触媒ドメイン内で同定されているAGS型点変異（K948N）をKIしたマウスを樹立したところ、胎生致死にはならず、RNA編集効率の低下やIFNによって誘導される遺伝子群（ISG）の発現が著しく上昇することを見出した。本研究では、樹立したK948N KIマウスを用いてAGS脳症の病態形成機構の解明を目的とした。

結果・考察

1. K948N KIマウスにおけるAGS型脳症の病態形成機構の解析

2ヶ月齢のK948N KIマウスではISGの発現上昇が認められたが、明らかな脳病変は認められなかった。そこで長期的に観察を行ったところ、1年齢のK948N KIマウスの脳ではアストロサイトの増生を伴う白質病変及び大脳基底核や脳室周囲層に軽微な石灰化が観察された（図1）。さらに、MDA5 KOマウスとK948N KIマウスを交配させたところ、ISGの発現上昇が正常化することが明らかになった。このため、K948N KIマウスが、RNA編集の低下を示し、未編集型の内因性2本鎖RNAがMDA5を活性化

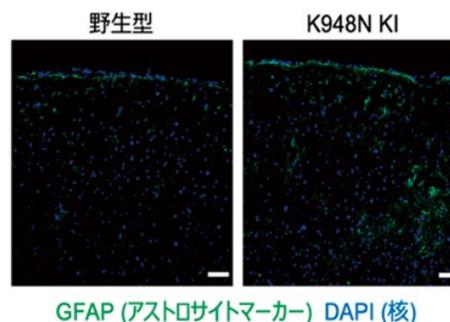


図1. K948N KIマウスが示すアストロサイトーシス

することで脳症を引き起こす一連のAGS病態を再現するモデルとなると結論付けた。一方で、有意な生存率の低下はなく、ヒトに比べると軽度で緩徐進行性であることも明らかになった。この差異は、

ADAR1の基質となるリピート配列数の違いによるものと予想され、ヒトの編集部位（1億箇所）はマウス（10万箇所）に比べると遥かに多く、MDA5を活性化する危険性のある内因性2本鎖RNAも多いためであると考えられた。

2. MDA5活性化回避に必要なADAR1アイソフォームの決定

ADAR1には異なるプロモーターによって転写されるADAR1p150とp110の2つのアイソフォームが存在する。これらは同じ遺伝子座からつくられるため、ADAR1p150に特異的なN末端側領域以外は同じアミノ酸配列で構成されており、触媒ドメインに位置するK948N変異は両アイソフォームの編集活性に影響を及ぼしていると予想された。そこでADAR1p110のみを選択的に欠損させたマウスとK948N KIマウスを交配させ、片方のアレルから野生型ADAR1p150を発現するマウスを樹立したところ、ISGレベルが完全に正常化することが明らかになった。すなわち、K948N KIマウスにおいて、ADAR1p150による編集活性の低下がMDA5の異常活性化を引き起こしていると考えられた。

3. K948N KIマウスにおけるRNA編集効率低下部位の同定

MDA5を活性化する内因性の基質を明らかにするため、ADAR1p110 KOマウス及びADAR1p150 KOマウスから脳を単離し、RNA-Seqにて網羅的にRNA編集部位を同定した。その結果、アイソフォーム選択的編集部位が存在することが明らかになった。さらに、ADAR1p150編集部位の中からK948N KIマウスにおいてRNA編集効率が著しく低下する部位として、Mad2l1遺伝子3' UTR内の領域を含むいくつかの候補を特定した（図2）。ADAR1p150特異的なN末端側領域には核外移行シグナル（NES）やZ型DNA/RNA結合ドメインが存在しており、これらがADAR1p150特有のRNA編集を生み出していると考えられる。現在、特定した候補部位がADAR1p150のどのような特性によって編集可能となるのか解析を行っている。また、ADAR1p150特異的RNA編集部位を含む2本鎖RNA形成領域を培養細胞に導入し、MDA5が活性化するか否かを検証中である。

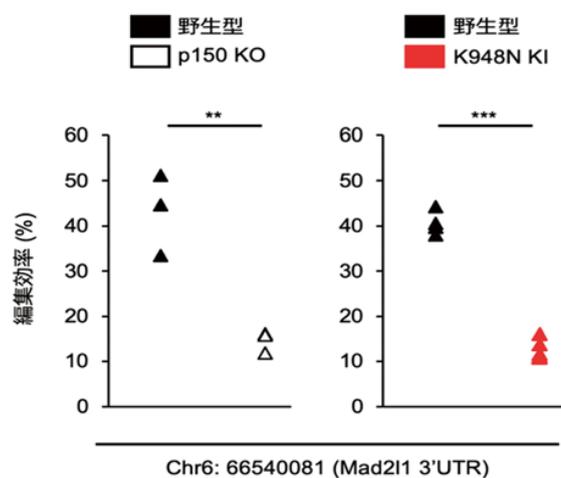


図2. K948N KIマウスにおけるRNA編集低下部位

謝辞

最後に、多大なるご支援を賜りました公益財団法人難病医学研究財団に深く感謝申し上げます。