

<特集「神経・精神疾患の基礎研究 Now」>

リピート伸長変異による神経筋疾患： 遺伝的知見と分子病態の新展開

藤野雄三^{*1,2}

¹近畿大学医学部脳神経内科

²京都府立医科大学大学院医学研究科神経内科学

Repeat Expansion Diseases: Unveiling Genetics and Molecular Pathomechanisms

Yuzo Fujino^{1,2}

¹*Department of Neurology, Kindai University Faculty of Medicine*

²*Department of Neurology,*

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

抄 録

ゲノム中の短いリピート配列の異常伸長は、神経筋疾患をはじめとする多様な遺伝性疾患を引き起こし、リピート病と総称される。リピート伸長変異は多型性に富み、時に 10,000 塩基以上に渡ることから、大規模解析は困難であった。しかし近年、シーケシングや解析技術の革新に伴い、正確なリピート配列情報をハイスループットに取得可能となり、新規リピート病が次々と同定されている。さらにリピート伸長変異は、遺伝性疾患のみならず、孤発性疾患のハイリスク素因となることも明らかになってきた。リピート病の遺伝学同様、分子病態研究も新局面を迎えている。遺伝子非翻訳領域内のリピート伸長変異が原因となるノンコーディングリピート病では、従来は変異による遺伝子機能喪失や転写された変異リピート RNA が病態の主体であると考えられてきた。ところが、リピート RNA を鋳型として、リピート関連非 AUG 翻訳 (RAN 翻訳) という生物学的にも新たな機構によってリピートペプチドが産生され、病態の中心的な役割を担うことが発見された。本稿では、リピート病の遺伝学・分子病態の新展開を概説し、特に RAN 翻訳の制御機構解明と治療法開発を目指した我々の取り組みを紹介する。

キーワード：液-液相分離、リピート病、リピート関連非 AUG 翻訳 (RAN 翻訳)、RNA シャペロン、Missing heritability.

Abstract

Abnormal expansion of short tandem repeats (STRs) can lead to various hereditary diseases, particularly neuromuscular disorders, collectively known as repeat expansion diseases. These expanded STRs are highly polymorphic and can span over 10,000 bases, presenting significant challenges for large-scale analysis. However, recent advances in sequencing and analytic technologies

令和 6 年 9 月 1 日受付 令和 6 年 9 月 10 日受理

*連絡先 藤野雄三 〒589-8511 大阪府大阪狭山市大野東377-2

fujino@koto.kpu-m.ac.jp/y-fujino@med.kindai.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.133.10.653

have facilitated the accurate, high-throughput identification of repeat sequences, leading to the discovery of numerous novel repeat expansion diseases. Beyond hereditary conditions, expanded STRs have emerged as significant genetic risk factors for sporadic diseases. The study of the molecular pathomechanisms in repeat expansion diseases is also advancing. In noncoding repeat expansion diseases, where mutations occur in untranslated regions of the causative genes, it was previously thought that the loss-of-function of the genes or the transcribed mutant repeat RNA primarily contribute to pathogenesis. However, it has been revealed that repeat RNA can be translated into repeat polypeptides via noncanonical repeat-associated non-AUG translation (RAN translation), playing critical roles in pathogenesis. This review outlines recent discoveries in the genetics and molecular pathomechanisms of repeat expansion diseases, with a focus on our efforts to elucidate the regulatory mechanisms of RAN translation and develop therapeutic strategies.

Key Words: Liquid-liquid phase separation, Repeat expansion disease, Repeat-associated non-AUG translation (RAN translation), RNA chaperone, Missing heritability.

はじめに

ゲノム中には塩基のリピート配列が多数存在し、中でも2~12塩基から成る短い配列が繰り返したものをSTR (Short Tandem Repeat)と呼ぶ。STRの異常伸長変異(リピート伸長変異)によって引き起こされる遺伝性疾患はリピート病と総称され、その多くが神経変性病態を来す¹⁾。1991年に脆弱X症候群の原因遺伝子変異として、*FMRI* 遺伝子内のCGGリピート配列の異常伸長が同定されて以降、現在までに実に50を超える疾患がリピート病として同定されている^{1,2)}。さらに、近年のゲノムシーケシング技術・バイオインフォマティクス解析の急速な発達に伴い、リピート伸長変異は孤発性疾患の遺伝的素因として病態に関与することが明らかになりつつあり、「missing heritability (孤発性疾患における推定遺伝率と実際に同定された遺伝的素因で説明可能な遺伝率の差)」を部分的に説明可能な要因として注目されている³⁾。

リピート病の分子病態に目を向けると、従来は遺伝子翻訳領域のリピート伸長変異を原因とするコーディングリピート病、特にCAGリピート配列の異常伸長によるポリグルタミン病を中心として研究が展開されてきた。ポリグルタミン病では、変異遺伝子から異常伸長ポリグルタミン鎖を有する変異タンパク質が翻訳され、これが中核的な病態を担うと考えられている⁴⁾。

一方、非翻訳領域のリピート伸長変異を原因とするノンコーディングリピート病では、伸長したリピート配列は当然翻訳されないと考えられてきたため、異常リピート配列を含む変異RNA(リピートRNA)の毒性に関する病態研究が中心であった。しかし驚くべきことに、リピートRNAは開始コドンAUGを欠くにも関わらず、非古典的なりピート関連非AUG(RAN, Repeat-associated non-AUG)翻訳によってリピートペプチドが産生され、これが神経変性を来すことが近年判明した⁵⁾。RAN翻訳の発見によって、タンパク質レベル・RNAレベルで別々に研究されてきたコーディング/ノンコーディングリピート病について、翻訳されたリピートペプチドによる共通の病態基盤が示唆されてきている。本稿では、リピート病について遺伝学・分子病態の両面からその新たな展開を紹介したい。

リピート病の遺伝学

STRはヒトゲノム中に約150万ヶ所存在し、ゲノムの約3%を構成する。その配列の詳細や生理的な役割は長らく未解明であるが、一塩基多型であるSNP(Single nucleotide polymorphism)と比較すると、STRはリピート数や内部リピート配列の構成が様々であることから極めて多型性が高く、ヒト形質の複雑性に寄与するのではないかと考えられている¹⁾³⁾⁶⁾。1991年に脆弱X症候群と球脊髄性筋萎縮症の原因

遺伝子変異として、それぞれ *FMR1* 遺伝子内の CGG リピート配列とアンドロゲン受容体遺伝子内の CAG リピート配列の異常伸長が相次いで報告され、STR は神経筋疾患と深い関わりを持った配列としてむしろ病態側から主に着目されてきた²⁾⁷⁾。それ以来、このような STR のリピート伸長変異を原因とする遺伝性疾患は、現在まで 50 を超える疾患群で同定され、その多くが神経変性病態を来し、リピート病と総称される¹⁾。

リピート病は変異が遺伝子の翻訳領域内に生じるコーディングリピート病と、非翻訳領域内に生じるノンコーディングリピート病に大別される。代表的なコーディングリピート病としては、CAG リピート配列の異常伸長を原因とするポリグルタミン病が挙げられ、前述の球脊髄性筋萎縮症以外に、Huntington 病、脊髄小脳失調症 (SCA, Spinocerebellar ataxia) 1, 2, 3, 6, 17, 51 型、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症、

の計 10 疾患が知られている (表 1)。ポリグルタミン病患者ではいずれも進行性の神経精神症状を来し、病理学的には異常伸長したポリグルタミン鎖を含む変異タンパク質が、神経細胞内に蓄積することを特徴とする。これらの疾患は遺伝学的にも共通した特徴を有しており、異常伸長 CAG リピート数の閾値が各疾患でほぼ等しく (35~45 回)、CAG リピート数と疾患の発症年齢や重症度に強い相関を認める。また原因となる各遺伝子間に相同性や機能的類似性がないことや、多くが顕性遺伝性を示す (球脊髄性筋萎縮症以外) ことから、異常伸長した CAG リピート自体が原因遺伝子の機能とは無関係に毒性を獲得すると考えられている⁴⁾⁸⁾。その他のコーディングリピート病として、ポリアラニン病 (GCN リピート配列の異常伸長を原因とする疾患群) や近年新たに同定されたポリグリシン病である SCA4 (*ZFH3* 遺伝子の GGC リピート配列の異常伸長による) が挙げ

表 1 コーディングリピート病

疾患	遺伝子	遺伝形式	STR 配列	リピート回数	
				正常	疾患
ポリグルタミン病					
脊髄小脳失調症 1 型	<i>ATXN1</i>	AD	CAG	6-39	39-91
脊髄小脳失調症 2 型	<i>ATXN2</i>	AD	CAG	14-31	32-200
脊髄小脳失調症 3 型	<i>ATXN3</i>	AD	CAG	10-44	53-87
脊髄小脳失調症 6 型	<i>CACNA1A</i>	AD	CAG	4-19	20-33
脊髄小脳失調症 7 型	<i>ATXN7</i>	AD	CAG	4-35	36-306
脊髄小脳失調症 17 型	<i>TBP</i>	AD	CAG	25-44	45-63
脊髄小脳失調症 51 型	<i>THAP11</i>	AD	CAG	20-38	45-100
歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症	<i>ATN1</i>	AD	CAG	6-36	48-93
Huntington 病	<i>HTT</i>	AD	CAG	6-35	36-250
球脊髄性筋萎縮症	<i>AR</i>	XL	CAG	9-36	38-62
ポリアラニン病					
眼咽頭型筋ジストロフィー	<i>PABPN1</i>	AD/AR	GCN	10	12-17
眼瞼裂狭小・眼瞼下垂・逆内眼角贅皮症候群	<i>FOXL2</i>	AD	GCN	14	22-24
鎖骨頭蓋形成不全症	<i>RUNX2</i>	AD	GCN	17	27
Hand-foot-genital 症候群	<i>HOXA13</i>	AD	GCN	18	24-27
全前脳胞症	<i>ZIC2</i>	AD	GCN	15	25
合多指症	<i>HOXD13</i>	AD	GCN	10	22-29
遺伝性感覚性自律神経性ニューロパチー 8 型	<i>PRDM12</i>	AR	GCN	7-14	18-19
先天性中枢性低換気症候群	<i>PHOX2B</i>	AD	GCN	20	25-33
発達性てんかん脳症	<i>ARX</i>	XL	GCN	12-16	20-27
X 染色体連鎖性下垂体機能低下症	<i>SOX3</i>	XL	GCN	15	26
ポリグリシン病					
脊髄小脳失調症 4 型	<i>ZFH3</i>	AD	GGC	14-26	42-74

略: AD, 常染色体顕性; AR, 常染色体潜性; XL, X 染色体連鎖性

られる¹⁾⁹⁾(表1)。

一方、ノンコーディングリピート病には前述の脆弱X症候群の他に、脆弱X関連振戦失調症候群・SCA8, 10, 12, 27B, 31, 36, 37・フリードライヒ運動失調症などの家族性脊髄小脳変性症や、筋強直性ジストロフィー1, 2型・眼咽頭遠位型ミオパチー1, 2, 3, 4型などの筋疾患、家族性成人型ミオクローヌスてんかん1, 2, 3, 4, 6, 7型、そして最も高頻度の遺伝性筋萎縮性側索硬化症(ALS, Amyotrophic lateral sclerosis)／前頭側頭型認知症(FTD, Frontotemporal dementia)であるC9orf72連鎖性ALS/FTD(C9-ALS/FTD)など、多様な神経筋疾患が含まれる(表2)。ポリグルタミ

ン病とは対照的に、これらの疾患の原因となるリピート配列や発症閾値となる伸長リピート数は疾患毎に多様で、リピート長と発症年齢・重症度との相関が明確ではない疾患が多い¹⁾。

興味深いことに、このようなリピート伸長変異は、遺伝性疾患のみならず、孤発性疾患において従来未同定であった遺伝的素因として近年注目されている。リピート伸長変異の特徴として、不完全な浸透率が挙げられ、多くのリピート病では発症閾値となるリピート数は曖昧で健常群と疾患群のオーバーラップが認められる。また、リピート伸長変異が表現型に与える影響は多様で、しばしば同一遺伝子のリピート伸長変異が異なる神経症候や病理像を来す(図

表2 ノンコーディングリピート病

疾患	遺伝子	STR位置	遺伝形式	STR配列	リピート回数	
					正常	疾患
脊髄小脳失調症8型	ATXN8OS	3'-UTR	AD	CTG	15-50	71-1,300
脊髄小脳失調症10型	ATXN10	イントロン	AD	ATTCT	10-29	280-4,500
脊髄小脳失調症12型	PPP2R2B	5'-UTR	AD	CAG	7-45	51-78
脊髄小脳失調症27B型	FGF14	イントロン	AD	GAA	8-250	250->700
脊髄小脳失調症31型	BEAN1	イントロン	AD	TGGAA	0	500-760
脊髄小脳失調症36型	NOP56	イントロン	AD	GGCCTG	3-14	650-2,500
脊髄小脳失調症37型	DAB1	5'-UTR	AD	ATTTCT	0	31-75
C9orf72連鎖性筋萎縮性側索硬化症/ 前頭側頭型認知症	C9orf72	5'-UTR イントロン	AD	GGGGCC	2-23	700-1,600
Huntington病類縁疾患2型	JPH3	3'-UTR	AD	CTG	6-28	41-58
筋強直性ジストロフィー1型	DMPK	3'-UTR	AD	CTG	5-37	50->2,000
筋強直性ジストロフィー1型	ZNF9	イントロン	AD	CCTG	11-26	75-11,000
核内封入体病	NOTCH2NLC	5'-UTR	AD	CGG	5-39	66-517
眼咽頭遠位型ミオパチー1型	LRP12	5'-UTR	AD	CGG	2-49	76-630
眼咽頭遠位型ミオパチー2型	GIPC	5'-UTR	AD	CGG	4-29	73-164
眼咽頭遠位型ミオパチー3型	NOTCH2NLC	5'-UTR	AD	CGG	5-39	128-198
眼咽頭遠位型ミオパチー4型	RILPL1	5'-UTR	AD	CGG	9-16	139-197
眼咽頭遠位型ミオパチー5型	ABCD3	5'-UTR	AD	CGG	3-44	118-694
白質脳症を伴う眼咽頭型ミオパチー	LOC642361/ NUTM2BASI	ノンコーディング	AD	CGG	3-16	N/A*
LRP12連鎖性筋萎縮性側索硬化症	LRP12	5'-UTR	AD	CGG	2-49	64-100
LRP12連鎖性遺伝性ニューロパチー	LRP12	5'-UTR	AD	CGG	2-49	50-152
家族性成人型ミオクローヌスてんかん1型	SAMD12	イントロン	AD	TTTCA	0	105-3,680**
家族性成人型ミオクローヌスてんかん2型	STARD7	イントロン	AD	TTTCA	0	150-460
家族性成人型ミオクローヌスてんかん3型	MARCH6	イントロン	AD	TTTCA	0	660-2,800**
家族性成人型ミオクローヌスてんかん4型	YEATS2	イントロン	AD	TTTCA	0	1,000-1,600**
家族性成人型ミオクローヌスてんかん6型	TNRC6A	イントロン	AD	TTTCA	0	-1,100
家族性成人型ミオクローヌスてんかん7型	RAPGEF2	イントロン	AD	TTTCA	0	-2200
Fuchs角膜ジストロフィー3型	TCF4	イントロン	AD	CTG	<40	>50
小脳性運動失調・ニューロパチー・前庭反射消失症候群	RFC1	イントロン	AR	AAGGG	11	400-2,000
Friedreich運動失調症	FXN	イントロン	AR	GAA	5-33	66-1300
広範性発達障害と進行性失調を伴う グルタミナーゼ欠損症	GLS	5'-UTR	AR	GCA	5-26	>90
Baratela-Scott症候群	XYLT1	プロモーター	AR	CGG	9-20	100-830
Unverricht-Lundborg病	CSTB	プロモーター	AR	CCCCGC- CCCGCG	2-3	30-125
脆弱X症候群	FMR1	5'-UTR	XL	CGG	5-40	>200
脆弱X関連振戦失調症候群	FMR1	5'-UTR	XL	CGG	5-40	55-200
脆弱XE症候群	FMR2	5'-UTR	XL	CCG	6-35	>200

*体細胞不安定性のため測定困難 **TTTCAとTTTTAリピートを合わせた回数
略: AD, 常染色体顕性; AR, 常染色体潜性; XL, X染色体連鎖性

1A). 例えば, SCA8の原因である *ATXN8* 遺伝子の CAG リピート配列は, 脊髄小脳変性症以外に孤発性 ALS のリスク因子にもなり, さらに健常群内でも同定される¹⁰⁾. このような特徴を鑑みると, リピート伸長変異は単にメンデル遺伝病の原因となる他にも, 孤発性疾患のハイリスクレバリエントとして機能して, その他の遺伝的要因や環境要因と協調して疾患発症や表現型に寄与する可能性がある (図 1B). リピート伸長変異は時に 10,000 塩基以上に及び, 従来のショートリードシーケンサーの解析可能なリード長を遥かに超えることから, 本仮説の大規模な検証は技術的に困難であった. しかし近年, ロングリードシーケンサーやバイオフィーマティクスの技術革新に伴い, 多遺伝子座に渡ってハイスループットに STR 多型・変異を解析可能となり, 実際に自閉症や ALS, 心筋症などの孤発性疾患でリピート伸長変異の関与が明らかになりつつある¹¹⁻¹⁵⁾.

リピート病の分子病態

遺伝学的なブレイクスルーと呼応して, リピート病の病態理解も進んでいる. コーディン

グリリピート病については, 変異タンパク質中に含まれる異常伸長した単一アミノ酸鎖 (リピートペプチド鎖) による病態を中心として研究が展開されてきた. ポリグルタミン病では, 変異タンパク質内に含まれる伸長ポリグルタミン鎖自体がミスフォールディング・ β シート構造への異常構造転移を生じ, その結果アミロイド線維様の凝集体を形成して細胞内で封入体として蓄積し, 神経機能障害が生じると想定されている¹⁶⁾. 一方ポリアラニン病については, 大部分が小児期発症の先天性疾患であり, それらの原因遺伝子がいずれも器官形成に重要な転写因子をコードすること, 同一遺伝子のミスセンス/フレームシフト変異が同様の症状を来すことから, 原因遺伝子の機能喪失が中心的な病態であると考えられている. その機序としては, 単に遺伝子発現レベルの低下のみならず, 伸長ポリアラニン鎖を含む変異タンパク質が正常タンパク質の動態・機能を阻害するというドミナントネガティブ効果が指摘されており, やはりリピートペプチド鎖レベルの毒性が示唆されている¹⁷⁾.

一方, ノンコーディングリピート病について

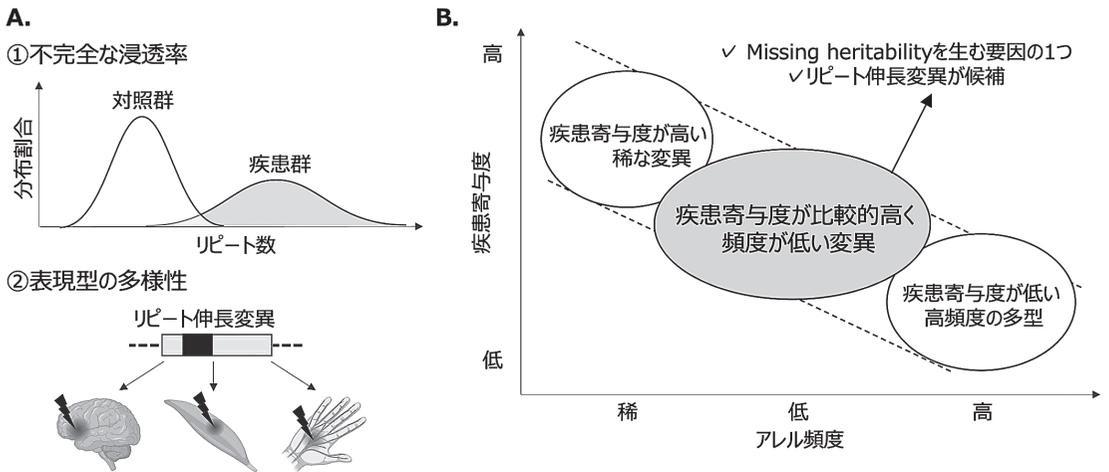


図1 リピート伸長変異の遺伝学知見

(A) リピート伸長変異は, ①不完全な浸透率を示し, ②同一の変異でも多様な神経症候・病理所見を示すことから, 他の遺伝的・環境要因と協調して疾患発症・表現型に影響すると考えられる. (B) リピート伸長変異は, 稀なメンデル遺伝病の原因となる以外に, 孤発性疾患のハイリスクレバリエントとして機能し, missing heritability を部分的に説明する可能性がある.

は、3つのメカニズムが想定されている。1つ目はリピート伸長変異による原因遺伝子の機能喪失で、例えば脆弱X症候群やフリードライヒ運動失調症など一部の潜性遺伝性疾患では、リピート伸長変異以外に原因遺伝子のミスセンス変異が同定されていることから、同機序の関与が推察される。一方、多くの顕性遺伝性疾患では毒性獲得性のメカニズムが想定され、その要因としては、異常伸長したリピート配列が非翻訳領域内に存在することから、従来は異常リピート配列を含むリピートRNAが病態の中核を担うと考えられてきた。実際に2つ目のメカニズムとして、リピートRNAはRNA fociとして凝集・蓄積し、その際様々なRNA結合タンパク質を巻き込んでこれらの機能変調を来すことが示されている。さらに3つ目のメカニズムとして、リピートRNAは非翻訳領域由来で開始コドンAUGを欠くにも関わらず、非古典的なRAN翻訳によってリピートペプチドが産生され、これが神経変性を来すことが明らかになってきた¹⁾⁵⁾。

RAN翻訳は鋳型となるRNAにリピート配列が含まれる際に、開始コドンであるAUGコドン非依存的に翻訳が進行し、リピートペプチド

が産生される機構である(図2A)。翻訳は全ての読み枠でセンス・アンチセンス両方向性に行進するため、1種類のリピートRNAから複数種類のリピートペプチドが産生される。興味深いことに、一般的に各種ストレスは翻訳開始因子eIF2のリン酸化を介してタンパク質の翻訳を全体的に抑制する(統合的ストレス応答)が、RAN翻訳はむしろ亢進することが知られており、古典的な翻訳とは全く異なる制御機構が関与する¹⁸⁾。2011年にSCA8及び筋強直性ジストロフィー1型患者組織でRAN翻訳によって産生されたリピートペプチドが同定されたことを皮切りに、C9-ALS/FTD、脆弱X関連振戦失調症候群、筋強直性ジストロフィー2型、SCA31、36など、複数のリピート病でRAN翻訳が確認されている⁵⁾¹⁸⁾。例えばC9-ALS/FTDでは、*C9orf72*遺伝子のイントロンに存在するGGGGCCリピート配列が異常伸長するが、リピートRNAからそれぞれフレームの異なる計5種類のジペプチドリピータンパク質(DPR, Dipeptide repeat protein)が産生され、実際に患者脳・髄液中に観察される(図2B)¹⁸⁻¹⁹⁾。さらにリピートRNA自身よりもむしろこれらのリピートペプチドが神経変性に寄与することが様々な細

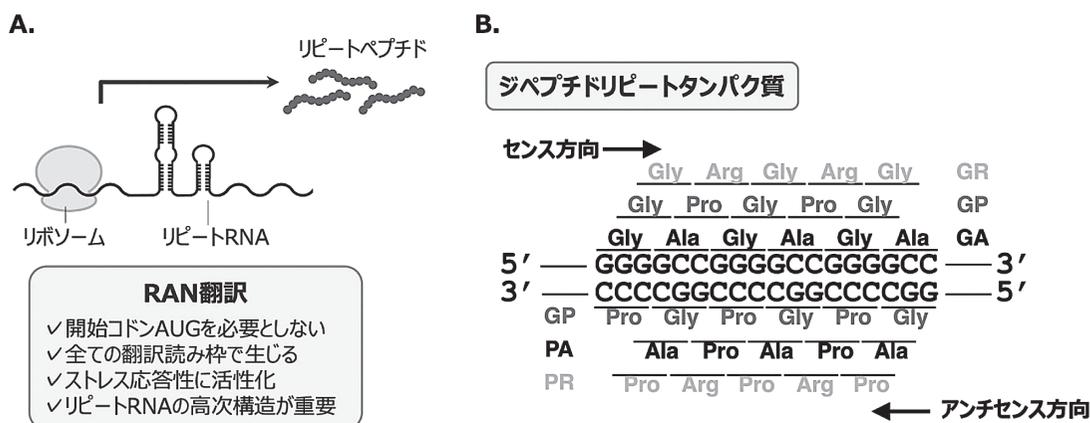


図2 RAN翻訳の概要

(A) RAN翻訳は生物学的にも新たな翻訳としての特徴を示し、古典的AUG依存性翻訳とは異なる制御機構が示唆される。(B) C9-ALS/FTDでは、伸長したセンス・アンチセンス方向のGGGGCC/CCCCGGリピートRNAから、6つの異なる読み枠で計5種類のリピートペプチド(ジペプチドリピータンパク質)がRAN翻訳によって産生される。

胞・動物モデルによって示唆され、RAN 翻訳は近年ノンコーディングリピート病のキーとなる機構と考えられている¹⁸⁾²⁰⁾。

RAN 翻訳の発見によって、コーディング/ノンコーディングリピート病の両者共通の病態基盤として、リピートペプチドによる毒性が示唆され、特に、これらが生理的な液-液相分離現象を障害する可能性が指摘されている。液-液相分離とは2つの液体が混ざり合わずに2相に分離する熱力学的現象であり、サラダドレッシングが水と油の相に分離する例がイメージしやすい²¹⁾。細胞レベルでは、RNA やタンパク質などの生体高分子が液-液相分離によってMLO (Membraneless organelles, 膜のないオルガネラ) と呼ばれる機能性液滴を形成し、濃縮・区画化されることで、RNA 代謝やストレス応答など様々な生体反応に寄与する。その中でも限定された数種類のアミノ酸から構成される低複雑性ドメインを含有するタンパク質は、液-液相分離を起こしやすく、MLO の動態や機能に重要であると考えられている²¹⁾。低複雑性ドメインと考えられるリピートペプチドもまた液-液相分離によって液滴を形成するが、コーディングリピート病における異常伸長したポリグルタミン鎖やポリアラニン鎖を含む変異タンパク質や、ノンコーディングリピート病における DPR などの RAN 翻訳産物は、生理的な液-液相分離動態を破綻させ、実際に細胞レベルで MLO の制御不全と毒性を来す¹⁾¹⁷⁾²²⁻²³⁾。

RAN 翻訳制御による ノンコーディングリピート病の 治療基盤形成を目指して

RAN 翻訳の病態における重要性が明らかになる一方で、翻訳制御機構の大部分は未解明のままである。我々は、RAN 翻訳の制御基盤の解明・治療法開発を目指し、ハイスループットな *in vivo* スクリーニングに適したショウジョウバエ実験系を用いて病態研究を展開している。特に、患者数が多く、RAN 翻訳の神経変性病態への関与がよく知られている C9-ALS/FTD を対象として、疾患モデルショウジョウ

バエを樹立した。異常伸長した GGGGCC リピート配列をショウジョウバエに発現させたところ、顕著な複眼変性や運動機能障害を認め、患者と同様に組織中に GGGGCC リピート RNA による RNA foci と RAN 翻訳によって産生された複数種類の DPR が観察された²⁴⁾。

次に、GGGGCC リピート RNA を標的とする RNA 結合タンパク質に着目し、これらの分子が *in vivo* で RAN 翻訳や変性病態に与える修飾効果について、樹立した C9-ALS/FTD モデルバエを用いてスクリーニングした。その結果、ALS/FTD 関連タンパク質 FUS が RAN 翻訳を抑制し、神経変性を著しく改善させることを同定した。そのメカニズムとして、円偏光二色性スペクトル解析や核磁気共鳴分光法を組み合わせることで、FUS は RNA シャペロンとして GGGGCC リピート RNA が形成するグアニン四重鎖構造を解きほぐすことで RAN 翻訳を制御する、という新たな機構を解明した (図3)²⁴⁾。また、同様に疾患バエを用いた遺伝的スクリーニングによって、hnRNPA3, hnRNPR, IGF2BP1 といった一群の RNA 結合タンパク質が、鋳型となる GGGGCC リピート RNA の発現量を低下させることで、RAN 翻訳産物量を減らし、C9-ALS/FTD における神経変性を改善させることを明らかにした (図3)²⁵⁾。加えて、未知の機能で RAN 翻訳と神経変性を制御する新規分子を複数同定し、現在そのメカニズムを検索中である。

さらに C9-ALS/FTD と同様に、私たちは RAN 翻訳と神経変性が観察可能なノンコーディングリピート病の疾患ハエモデルを複数樹立し、疾患横断的な病態制御機構の解明を試みている。例えば SCA31 モデルショウジョウバエにおいて、TDP-43 や FUS は UGGAA リピート RNA に結合し、やはり RNA シャペロンとして RNA 高次構造を変化させることで、病的な翻訳と神経変性を抑制することを明らかにしている²⁶⁾。

結 語

近年のゲノム解析技術の革新・低コスト化に

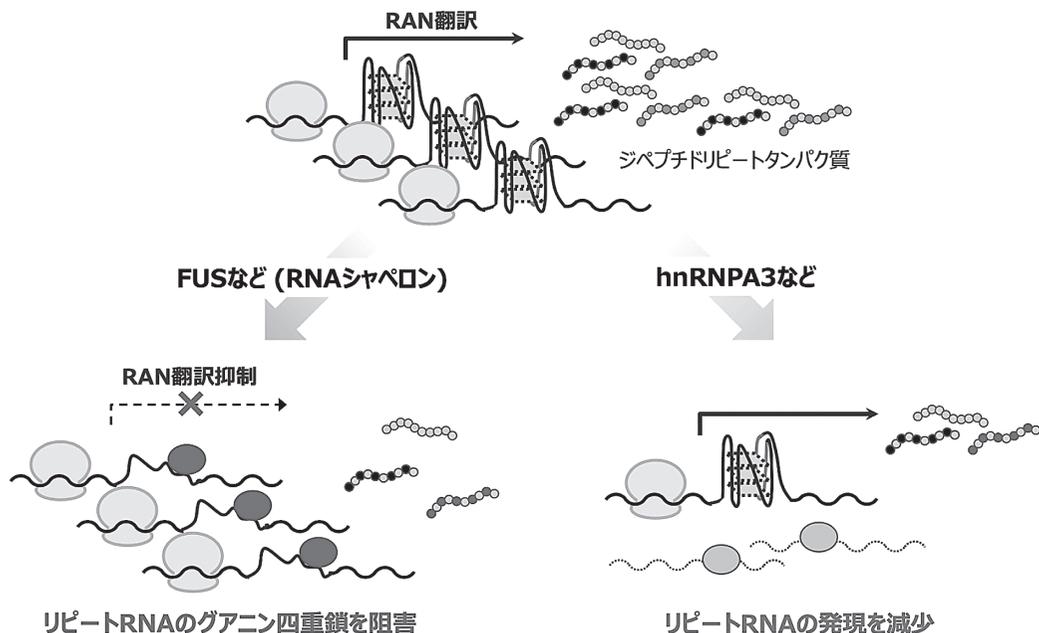


図3 RAN 翻訳の制御機構

C9-ALS/FTDにおいて、FUSをはじめとするRNA結合タンパク質は、リピートRNAの高次構造を変化させるRNAシャペロンとして機能し、RAN翻訳を直接的に制御する。同様のRAN翻訳制御機構は、SCA31などの異なるノンコーディングリピート病でも証明され、幅広い神経筋難病における共通した制御基盤であると考えられる。また、C9-ALS/FTDにおいて、hnRNPA3など別の種類のRNA結合タンパク質は、鋳型となるリピートRNAの発現量を低下させることで、間接的にRAN翻訳を制御する。

よって、新たなリピート病が年々同定されており、リピート伸長変異は想定されていた以上に様々な病態に関与していることが分かってきた。特に近年は、従来のSNPを中心とした解析では同定困難であった「missing heritability」を部分的に説明する要因としてリピート伸長変異が着目されており、リピート病の分子病態の理解は遺伝性疾患のみならず孤発性疾患の病態解明・治療法開発に寄与することが期待される。

また、2011年に同定されたRAN翻訳は、当時の生物学の常識を覆すような機構であり、当初は懐疑的な見方もあったようだが、現在では様々なノンコーディングリピート病の基盤とな

る機構であることが明らかになってきた。したがって、その制御メカニズムの解明は、これらの幅広い神経筋難病の治療基盤形成に寄与すると期待される。

さらに、RAN翻訳の発見に端を発して、その後生理的に存在する非AUGコドンからの翻訳やリピート関連翻訳が次々と同定された^{27,28)}。したがってリピート病の分子病態研究は、長らく不明であるSTRの生理的な機能など、生物学の新たな側面の理解につながる可能性を秘めている。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) Fujino Y, Nagai Y. The molecular pathogenesis of repeat expansion diseases. *Biochem Soc Trans*, 50: 119-134, 2022.
- 2) Kremer EJ, Pritchard M, Lynch M, Yu S, Holman K, Baker E, Warren ST, Schlessinger D, Sutherland GR, Richards RI. Mapping of DNA instability at the

- fragile X to a trinucleotide repeat sequence p(CCG)_n. *Science*, 252: 1711-1714, 1991.
- 3) Hannan AJ. Tandem repeats mediating genetic plasticity in health and disease. *Nat Rev Genet*, 19: 286-298, 2018.
 - 4) Takeuchi T, Nagai Y. Protein Misfolding and Aggregation as a Therapeutic Target for Polyglutamine Diseases. *Brain Sci*, 7: 128, 2017.
 - 5) Zu T, Gibbens B, Doty NS, Gomes-Pereira M, Huguët A, Stone MD, Margolis J, Peterson M, Markowski TW, Ingram MA, Nan Z, Forster C, Low WC, Schoser B, Somia NV, Clark HB, Schmechel S, Bitterman PB, Gourdon G, Swanson MS, Moseley M, Ranum LP. Non-ATG-initiated translation directed by microsatellite expansions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 260-265, 2011.
 - 6) Margoliash J, Fuchs S, Li Y, Zhang X, Massarat A, Goren A, Gymrek M. Polymorphic short tandem repeats make widespread contributions to blood and serum traits. *Cell Genom*, 3: 100458, 2023.
 - 7) La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB, Harding AE, Fischbeck KH. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature*, 352: 77-79, 1991.
 - 8) Tan D, Wei C, Chen Z, Huang Y, Deng J, Li J, Liu Y, Bao X, Xu J, Hu Z, Wang S, Fan Y, Jiang Y, Wu Y, Wu Y, Wang S, Liu P, Zhang Y, Yang Z, Jiang Y, Zhang H, Hong D, Zhong N, Jiang H, Xiong H. CAG Repeat Expansion in THAP11 Is Associated with a Novel Spinocerebellar Ataxia. *Mov Disord*, 38: 1282-1293, 2023.
 - 9) Figueroa KP, Gross C, Buena-Atienza E, Paul S, Gandelman M, Kakar N, Sturm M, Casadei N, Admard J, Park J, Zühlke C, Hellenbroich Y, Pozojevic J, Balachandran S, Händler K, Zittel S, Timmann D, Erdlenbruch F, Herrmann L, Feindt T, Zenker M, Klopstock T, Dufke C, Scoles DR, Koeppen A, Spielmann M, Riess O, Ossowski S, Haack TB, Pulst SM. A GGC-repeat expansion in ZFH3 encoding polyglycine causes spinocerebellar ataxia type 4 and impairs autophagy. *Nat Genet*, 56: 1080-1089, 2024.
 - 10) Hirano M, Samukawa M, Isono C, Saigoh K, Nakamura Y, Kusunoki S. Noncoding repeat expansions for ALS in Japan are associated with the *ATXN8OS* gene. *Neurol Genet*, 4: e252, 2018.
 - 11) Tanudisastro HA, Deveson IW, Dashnow H, MacArthur DG. Sequencing and characterizing short tandem repeats in the human genome. *Nat Rev Genet*, 25: 460-475, 2024.
 - 12) Trost B, Engchuan W, Nguyen CM, Thiruvahindrapuram B, Dolzhenko E, Backstrom I, Mirceta M, Mojarad BA, Yin Y, Dov A, Chandrakumar I, Prasolava T, Shum N, Hamdan O, Pellicchia G, Howe JL, Whitney J, Klee EW, Baheti S, Amaral DG, Anagnostou E, Elsabbagh M, Fernandez BA, Hoang N, Lewis MES, Liu X, Sjaarda C, Smith IM, Szatmari P, Zwaigenbaum L, Glazer D, Hartley D, Stewart AK, Eberle MA, Sato N, Pearson CE, Scherer SW, Yuen RKC. Genome-wide detection of tandem DNA repeats that are expanded in autism. *Nature*, 586: 80-86, 2020.
 - 13) Mitra I, Huang B, Mousavi N, Ma N, Lamkin M, Yanicky R, Shleizer-Burko S, Lohmueller KE, Gymrek M. Patterns of de novo tandem repeat mutations and their role in autism. *Nature*, 589: 246-250, 2021.
 - 14) Henden L, Fearnley LG, Grima N, McCann EP, Dobson-Stone C, Fitzpatrick L, Friend K, Hobson L, Chan Moi Fat S, Rowe DB, D'Silva S, Kwok JB, Halliday GM, Kiernan MC, Mazumder S, Timmins HC, Zoing M, Pamphlett R, Adams L, Bahlo M, Blair IP, Williams KL. Short tandem repeat expansions in sporadic amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *Sci Adv*, 9: eade2044, 2023.
 - 15) Mitina A, Khan M, Lesurf R, Yin Y, Engchuan W, Hamdan O, Pellicchia G, Trost B, Backstrom I, Guo K, Pallotto LM, Lam Doong PH, Wang Z, Nalpathamkalam T, Thiruvahindrapuram B, Papaz T, Pearson CE, Ragoussis J, Subbarao P, Azad MB, Turvey SE, Mandhane P, Moraes TJ, Simons E, Scherer SW, Loughheed J, Mondal T, Smythe J, Altamirano-Diaz L, Oechslin E, Mital S, Yuen RKC. Genome-wide enhancer-associated tandem repeats are expanded in cardiomyopathy. *EBioMedicine*, 101: 105027, 2024.
 - 16) Nagai Y, Inui T, Popiel HA, Fujikake N, Hasegawa K, Urade Y, Goto Y, Naiki H, Toda T. A toxic monomeric conformer of the polyglutamine protein. *Nat Struct Mol Biol*, 14: 332-340, 2007.
 - 17) Antón R, Treviño MÁ, Pantoja-Uceda D, Félix S, Babu M, Cabrita EJ, Zweckstetter M, Tinnefeld P, Vera AM, Oroz J. Alternative low-populated conformations prompt phase transitions in polyalanine repeat expansions. *Nat Commun*, 15: 1925, 2024.
 - 18) Fujino Y, Mori K, Nagai Y. Repeat-associated non-AUG translation in neuromuscular diseases: mechanisms and therapeutic insights. *J Biochem*, 173: 273-

- 281, 2023.
- 19) Mori K, Weng SM, Arzberger T, May S, Rentzsch K, Kremmer E, Schmid B, Kretzschmar HA, Cruts M, Van Broeckhoven C, Haass C, Edbauer D. The C9orf72 GGGGCC repeat is translated into aggregating dipeptide-repeat proteins in FTL/ALS. *Science*, 339: 1335-1338, 2013.
 - 20) Mizielińska S, Grönke S, Niccoli T, Riddle CE, Clayton EL, Devoy A, Moens T, Norona FE, Woollacott IOC, Pietrzyk J, Cleverley K, Nicoll AJ, Pickering-Brown S, Dols J, Cabecinha M, Hendrich O, Fratta P, Fisher EMC, Partridge L, Isaacs AM. C9orf72 repeat expansions cause neurodegeneration in *Drosophila* through arginine-rich proteins. *Science*, 345: 1192-1194, 2014.
 - 21) Gomes E, Shorter J. The molecular language of membraneless organelles. *J Biol Chem*, 294: 7115-7127, 2019.
 - 22) Peskett TR, Rau F, O'Driscoll J, Patani R, Lowe AR, Saibil HR. A Liquid to Solid Phase Transition Underlying Pathological Huntingtin Exon1 Aggregation. *Mol Cell*, 70: 588-601, 2018.
 - 23) Lee KH, Zhang P, Kim HJ, Mitrea DM, Sarkar M, Freibaum BD, Cika J, Coughlin M, Messing J, Molliex A, Maxwell BA, Kim NC, Temirov J, Moore J, Kolaitis RM, Shaw TI, Bai B, Peng J, Kriwacki RW, Taylor JP. C9orf72 Dipeptide Repeats Impair the Assembly, Dynamics, and Function of Membrane-Less Organelles. *Cell*, 167: 774-788, 2016.
 - 24) Fujino Y, Ueyama M, Ishiguro T, Ozawa D, Ito H, Sugiki T, Murata A, Ishiguro A, Gendron T, Mori K, Tokuda E, Taminato T, Konno T, Koyama A, Kawabe Y, Takeuchi T, Furukawa Y, Fujiwara T, Ikeda M, Mizuno T, Mochizuki H, Mizusawa H, Wada K, Ishikawa K, Onodera O, Nakatani K, Petrucelli L, Taguchi H, Nagai Y. FUS regulates RAN translation through modulating the G-quadruplex structure of GGGGCC repeat RNA in C9orf72-linked ALS/FTD. *eLife*, 12: RP84338, 2023.
 - 25) Taminato T, Takeuchi T, Ueyama M, Mori K, Ikeda M, Mochizuki H, Nagai Y. Therapeutic reduction of GGGGCC repeat RNA levels by hnRNPA3 suppresses neurodegeneration in *Drosophila* models of C9orf72-linked ALS/FTD. *Hum Mol Genet*, 32: 1673-1682, 2023.
 - 26) Ishiguro T, Sato N, Ueyama M, Fujikake N, Sellier C, Kanegami A, Tokuda E, Zamiri B, Gall-Duncan T, Mirceta M, Furukawa Y, Yokota T, Wada K, Taylor JP, Pearson CE, Charlet-Berguerand N, Mizusawa H, Nagai Y, Ishikawa K. Regulatory Role of RNA Chaperone TDP-43 for RNA Misfolding and Repeat-Associated Translation in SCA31. *Neuron*, 94: 108-124, 2017.
 - 27) Chen J, Brunner AD, Cogan JZ, Nuñez JK, Fields AP, Adamson B, Itzhak DN, Li JY, Mann M, Leonetti MD, Weissman JS. Pervasive functional translation of noncanonical human open reading frames. *Science*, 367: 1140-1146, 2020.
 - 28) Al-Turki TM, Griffith JD. Mammalian telomeric RNA (TERRA) can be translated to produce valine-arginine and glycine-leucine dipeptide repeat proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 120: e2221529120, 2023.

著者プロフィール



藤野 雄三 Yuzo Fujino

所属・職：近畿大学医学部脳神経内科・研究員（日本学術振興会特別研究員（PD））
京都府立医科大学大学院医学研究科神経内科学・研修員

略歴：2014年3月 京都府立医科大学医学部医学科卒業
2014年4月 神戸市立医療センター中央市民病院 初期研修医
2016年4月 京都府立医科大学附属病院 神経内科 専攻医
2018年4月 松下記念病院 脳神経内科 専攻医
2019年10月 京都岡本記念病院 脳神経内科 専攻医
2020年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科（統合医科学専攻、神経内科学）
2024年4月～現職

専門分野：神経内科学，神経変性疾患

- 主な業績：1. Kasai T, Shinomoto M, Kitani-Morii F, Ohmichi T, Fujino Y, Kondo M, Terada N, Tatebe H, Tokuda T, Mizuno T. [Social maturity scores in adults with Down syndrome. Characteristics at the onset of Alzheimer's disease and changes by age group]. *Rinsho Shinkeigaku*, **64**: 550-556, 2024.
2. Ueda T, Takeuchi T, Fujikake N, Suzuki M, Minakawa EN, Ueyama M, Fujino Y, Kimura N, Nagano S, Yokoseki A, Onodera O, Mochizuki H, Mizuno T, Wada K, Nagai Y. Dysregulation of stress granule dynamics by DCTN1 deficiency exacerbates TDP-43 pathology in Drosophila models of ALS/FTD. *Acta Neuropathol Commun*, **12**: 20, 2024.
3. Gotoh S, Mori K, Fujino Y, Kawabe Y, Yamashita T, Omi T, Nagata K, Tagami S, Nagai Y, Ikeda M. eIF5 stimulates the CUG initiation of RAN translation of poly-GA dipeptide repeat protein (DPR) in C9orf72 FTLD/ALS. *J Biol Chem*, **300**: 105703, 2024.
4. Fujino Y, Ueyama M, Ishiguro T, Ozawa D, Ito H, Sugiki T, Murata A, Ishiguro A, Gendron T, Mori K, Tokuda E, Taminato T, Konno T, Koyama A, Kawabe Y, Takeuchi T, Furukawa Y, Fujiwara T, Ikeda M, Mizuno T, Mochizuki H, Mizusawa H, Wada K, Ishikawa K, Onodera O, Nakatani K, Petrucelli L, Taguchi H, Nagai Y. FUS regulates RAN translation through modulating the G-quadruplex structure of GGGGCC repeat RNA in C9orf72-linked ALS/FTD. *eLife*, **12**: RP84338, 2023.
5. Ohmichi T, Kasai T, Shinomoto M, Kitani-Morii F, Fujino Y, Menjo K, Mizuno T. Serum leucine-rich $\alpha 2$ glycoprotein as a potential biomarker for systemic inflammation in Parkinson's disease. *PLoS One*, **18**: e0282153, 2023.
6. Fujino Y, Kasai T, Kitani-Morii F, Ohmichi T, Shinomoto M, Menjo K, Mizuno T. Impaired age-dependent increases in phosphoglycerate kinase activity in red blood cells of Parkinson's disease patients. *Parkinsonism Relat Disord*, **91**: 128-134, 2021.
7. Kitani-Morii F, Kasai T, Horiguchi G, Teramukai S, Ohmichi T, Shinomoto M, Fujino Y, Mizuno T. Risk factors for neuropsychiatric symptoms in patients with Parkinson's disease during COVID-19 pandemic in Japan. *PLoS One*, **16**: e0245864, 2021.
8. Shinomoto M, Kasai T, Tatebe H, Kitani-Morii F, Ohmichi T, Fujino Y, Allsop D, Mizuno T, Tokuda T. Cerebral spinal fluid biomarker profiles in CNS infection associated with HSV and VZV mimic patterns in Alzheimer's disease. *Transl Neurodegener*, **10**: 2, 2021.