

PIKfyve 阻害剤の

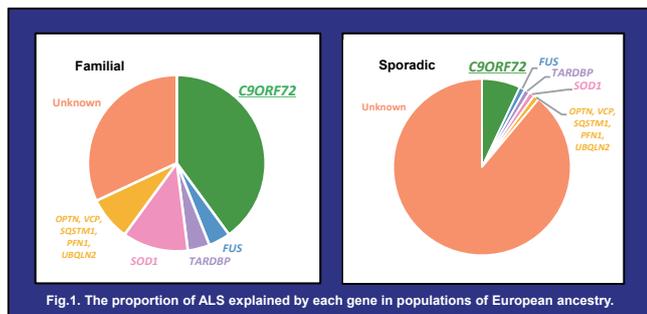
筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 治療薬としての可能性

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)

ALS は、脳、脳幹及び脊髄にある運動ニューロンが選択的に変性していく進行性の致命的な神経変性疾患です。運動ニューロンの機能低下は筋力の低下を引き起こし、通常診断後 3～5 年以内に呼吸不全により死に至ります。ALS を発症する生涯リスクは 400 人に～1 人と推定されています¹⁾。現在 ALS の治療に対しては、緩和治療薬として riluzole と edaravone が FDA の承認を得ておりますがその効果は限定的であり、有効な治療法がありません²⁾。

C9ORF72 遺伝子イントロン内の 6 塩基反復配列伸長

ALS 患者の約 10% は家族性、残りの 90% は孤発性に分類されます。そして C9ORF72 遺伝子で同定されたイントロン内の 6 塩基 (GGGGCC) 反復配列伸長はヨーロッパ系の家族性 ALS の～40%、孤発性 ALS の～7% に見られる最も共通した ALS の原因遺伝子変異です³⁾ (Fig.1)。健常者の多くは C9ORF72 の 6 塩基反復配列が 24 までの繰り返しですが、ALS 患者ではこの繰り返しがそれ以上、多い場合は数百～数千に及ぶことがあります⁴⁾。



C9ORF72 の loss- and gain-of-function メカニズム

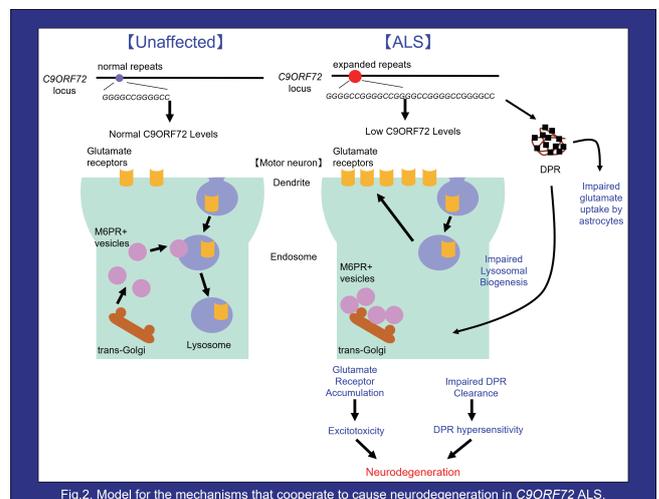
C9ORF72 の 6 塩基反復配列伸長は、C9ORF72 のタンパク質量を低下させる loss-of-function 及び 6 塩基反復配列伸長に由来する 2 アミノ酸繰り返しタンパク質 (dipeptide repeat proteins: DPRs) を産生する gain-of-function の両方のメカニズムによって神経変性を起こします⁵⁾ (Fig.2)。

C9ORF72 のタンパク質量の低下により、運動ニューロンではリソソームが減少します。これはエンドソーム小胞及びマンノース-6-リン酸受容体(M6PR)+小胞の

輸送の変化の一部起因している可能性があります。そしてリソソーム生合成の阻害は、細胞表面にグルタミン酸受容体を蓄積させ、神経伝達物質であるグルタミン酸による興奮毒性への感受性を高めることとなります。加えて毒性を引き起こすことが知られている DPRs の排除も損なわれます⁵⁾。

Gain-of-function としては、GGGGCC リピートを含む C9ORF72 の転写産物からリピート関連開始コドン非依存性翻訳により DPRs が産生されます。DPRs はアストロサイトの EAAT2 グルタミン酸トランスポーターの異常なスプライシング及び機能不全を誘導して、グルタミン酸の取り込み速度を低下させます⁵⁾⁶⁾。EAAT2 の異常なスプライシング及びタンパク質の損失は ALS 患者の運動皮質及び脊髄で見られ、細胞外のグルタミン酸量を増加させ、興奮毒性による神経変性を引き起こします⁷⁾。また DPRs は iMN (iPS 細胞から分化誘導された運動ニューロン) の生存率を低下させる働きを有し、注目すべきことに C9ORF72+/-、C9ORF72-/- 及び C9ORF72 患者の iMN の DPRs による生存率の低下は正常な iMN より明らかに速いことが確認されています⁵⁾。

このように、6 塩基反復配列伸長により C9ORF72 の loss-of-function と gain-of-function のメカニズムが協調して、ALS の神経変性を引き起こしているため、C9ORF72 の機能を代替する分子の創製が求められています。



低分子化合物によるPIKfyve阻害はALSモデル細胞及び動物の神経変性メカニズムを改善する

2018年にShi, Y.らがC9ORF72 ALS患者由来iMNの生存率を改善する低分子を同定するため、表現型スクリーニングを行いました。小胞輸送を含む様々な細胞プロセスを標的とする化合物をスクリーニングした結果、フォスファチジルイノシトール-5-キナーゼの1種、PIKfyveの選択的阻害剤であるYM201636がC9ORF72患者由来iMNの生存率を有意に向上させる化合物として同定され、別のPIKfyve阻害剤であるapilimodも同様に作用することが報告されました⁵⁾。

PIKfyve阻害は膜脂質であるフォスファチジルイノシトール3-リン酸(PI3P)がフォスファチジルイノシトール(3,5)-2-リン酸(PI(3,5)P2)へと変換されることを妨げ、その結果PI3P量を増加させます。PI3Pは初期エンドソームを成熟させ、またリソソームと、エンドソーム又はオートファゴソームの融合を促進します。つまり、PIKfyveの阻害はPI3P量を増加させ、グルタミン酸受容体又はDPRsの除去を促進し、低下したC9ORF72の機能を補うと考えられます⁵⁾。PIKfyve阻害の重要性をさらに裏付けるものとして、PIKfyveとは逆の機能((PI(3,5)P2)を(PI3P)に変換)を持つFIG4(a phosphoinositide 5-phosphatase)という脱リン酸化酵素のloss-of-function変異がALSの2%に見られ、ALSへの危険因子として作用していると考えられています⁸⁾。

Apilimodは、C9ORF72 ALSモデルマウスにおいてloss-of-functionとgain-of-function両方のC9ORF72疾患メカニズムを改善することが報告されています⁹⁾。

ALS治療を目的としたPIKfyve阻害剤の開発

PIKfyve阻害によりC9ORF72患者の疾患が改善される可能性があるというALS研究関係者の確信は、少なくとも2社によって開始または計画されている臨床試験の進展によって示されています。AI Therapeutics社は現在、LAM-002A(apilimod dimecylate)のフェーズ2a試験の被験者を募集しており、この試験で彼らはALS症状の改善やバイオマーカーを評価しようとしています。またVerge Genomics社は2022年中にPIKfyve阻害剤で臨床試験に入る計画を立てています。

患者由来細胞株、動物モデル及びALS患者から、PIKfyveが新たなALS治療薬の開発にとって魅力的な

標的であるという強力な証拠が得られたため、多くの研究者がPIKfyveを阻害する低分子を探索しています。

カルナバイオサイエンスはPIKfyve研究を支援します

弊社ではキナーゼタンパク質製品・各種サービス提供にて皆様のPIKfyve研究をサポート致します。

PIKfyveを含む弊社のキナーゼタンパク質や関連製品は、全て社内で製造されており、厳格な品質チェックの後お客様にお届けしております。アッセイキット製品及び生化学アクティビティアッセイ受託サービスでは全てPIKfyveを含め全て自社製造の活性タンパク質が使用されています。併せて、PIKfyveへの結合性をNanoBRET™技術を用いて測定するセルベースバインディングアッセイサービスもご活用ください。

弊社の製品・サービスにご興味ございましたら、info@carnabio.comにお気軽にお問合せ下さい。

製品・サービスの詳細については、以下のリンクからご覧いただけます。

- 脂質キナーゼタンパク質製品
- QuickScout Screening Assist® ADP-Glo™ Assay キット (脂質キナーゼ)
- 生化学プロファイリングアッセイ受託サービス (脂質キナーゼ)
- NanoBRET™ TE Intracellular キナーゼアッセイサービス

引用：

- 1) Brain. 2020; 143(6): 1651-1673. Guo W.
- 2) Med Res Rev. 2019; 39(2): 733-748. Jaiswal MK.
- 3) Nat Neurosci. 2014; 17(1): 17-23. Renton AE.
- 4) Curr Opin Genet Dev. 2017; 44: 117-124. Van Mossevelde S.
- 5) Nat Med. 2018; 24(3): 313-325. Shi Y.
- 6) Science. 2014; 345(6201): 1139-45. Kwon I.
- 7) Neuron. 1998; 20(3): 589-602. Lin CL.
- 8) Am J Hum Genet. 2009; 84(1): 85-8. Chow CY.
- 9) bioRxiv. 2019, doi: <https://doi.org/10.1101/685800>, Staats KA.

このニュースレターの中で論文から引用した情報の日本語翻訳文はカルナバイオサイエンス社が作成しました。