

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07788

研究課題名(和文) 若年性遺伝子による小児脳難病の遺伝子治療法開発

研究課題名(英文) Therapeutic applications of findings with juvenility-associated genes for pediatric neurological diseases

研究代表者

森 雅樹 (MORI, MASAKI)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：10602625

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：小児難病の根治的治療を可能とする技術開発を目的とし、小児期に活発に機能している分子ネットワークの同定を行った。マウスモデルを用い、小児期に顕著に発現している遺伝子群として「若年性遺伝子」を同定した。若年性遺伝子の機能は「細胞若年性」を維持することであり、細胞若年性は細胞の増殖性・分化能・同化優位性・老化抵抗性によって構成される。細胞若年性は、大人と子どもの細胞レベルでの違いである。細胞若年性を人為的に促進することで小児難病の治療に役立てるため、創薬標的としてSRSF7、BEX1、若年性リンクRNAであるGm14230を同定し、小児難病の治療開発を目的とした小児特有の分子基盤の特定に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児難病の治療開発を目的とし、小児期に特異的に活動している分子基盤を世界で初めて同定した。これら若年性の分子基盤は、大人にはなく子どもにはある生理特性の実現に寄与しており、その異常は小児難病の原因となる。若年性の解析は過去に知られていなかった新たな分子機構の同定につながっており、生物学的な新規知見になるだけでなく、これまで不明であった病因を解明し、治療法の存在しなかった疾患の治療開発に結びつく可能性がある。若年性遺伝子であるSRSF7は生後のスプライシング・パターンの変化を担う。胎児期のみならず、生後の成長期にもゲノムワイドにスプライシング・パターンが変化することを世界に先駆けて解明した。

研究成果の概要(英文)：Aiming at elucidating a fundamental mechanism that underlies child-specific physiological properties, the molecules expressed specifically in juvenile were investigated. We identified juvenility-associated genes (JAGs) and juvenility-associated long noncoding RNAs (JALNCs) in the juvenile transcriptome that was highly conserved in humans. The juvenile transcriptome undergoes the age-dependent alternative splicing (ADAS) and augments the anabolism-predominant state in juvenile. We also identified SRSF7 as the responsible factor for the ADAS. Mutations in SRSF7 caused neurodevelopmental diseases in mice, thus suggesting the potential of SRSF7 as the therapeutic target for pediatric diseases. Forced expression of SRSF7 eliminated premature senescent cells thus maintaining tissue integrity. We in this project identified the molecular framework that specify children from adults, which constitute previously unrecognized biological network harboring therapeutic potentials.

研究分野：小児科学

キーワード：若年性 小児難病 小児神経発達 若年性遺伝子 (JAG) 若年性リンクRNA (JALNC) 年齢依存的スプライシング (ADAS) 細胞若年性 若年性トランスクリプトーム

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

多くの小児難病が存在し、治療法の開発が待たれている。本計画では、小児難病の治療開発を見据え、小児に特有の生理的性質を実現している分子機構の解明に取り組んだ。子どもは小さな大人ではなく、生理的特徴が大きく異なり、罹患する疾患も明確に違うが、その仕組みは不明である。大人も子どもも同様のゲノム DNA を持ち共通の物理原理に従うが、生物学的には際立った違いが生じるが、その分子基盤は知られていない

小児に特有の生理的性質には、大人にはなく小児期に際立って認められる「成長」・「発達」・「高い学習能力」などがあり、それらを総称して「若年性 (juvenility)」と呼んでいる。若年性の分子基盤は明らかになっていなかった。若年性の異常が小児難病を引き起こすのか、研究開始当初には不明であった。また、若年性を人為的にコントロールすることが小児難病の治療につながる可能性があるが、そのような研究には前例がない。

### 2. 研究の目的

小児難病の治療開発を目的とし、小児期に特有の分子基盤を同定し、それらがどのようにして小児の特徴を形作るかを解明する。さらに、若年性の分子機構が異常となることが、小児難病を引き起こすかどうか検討する。若年性の分子機構を標的とした小児難病の治療が可能かどうかを検討する。

### 3. 研究の方法

公共のヒト・ゲノムデータおよびマウスモデル解析系を用い、小児期の遺伝子発現プロファイル (トランスクリプトーム) を同定した。マウスで得られた知見はヒトのデータセットと照合を行い、ヒトでも同様に当てはまるかを検討した。さらに、同定された遺伝子の機能を明らかにするためにノックアウトマウスなどのモデル生物系を新規に樹立し、生物においてはどのような変化を引き起こすかを検討した。

### 4. 研究成果

マウスのモデル生物系を用い、生後 1 週または 2 週までの生後の成長期に発現している遺伝子セットを若年性遺伝子 (juvenility-associated genes, JAG, ‘ジャグ’) として同定した。タンパク質をコードしないノンコーディング・エレメントにトランスクリプトーム解析を拡張し、成長期に高発現しているノンコーディング RNA (long noncoding RNA, lncRNA) として若年性リンク RNA (JALNC, ‘ジャリンク’) を同定した。約 60 種類の JALNC が同定され、その中で機能未知でありヒトとマウスで最も強く進化的に保存されている「Gm14230」の機能解析を行った。Gm14230 の発現を RNA 干渉 (RNAi) で抑制すると細胞老化 (cellular senescence) が誘導された。このことから Gm14230 の生体機能は、細胞が誤って老化状態に変化しないように抵抗する老化抵抗性を担うことであると考えられた。

大人と子どもでは細胞レベルでどのように違うのか知られていない。本研究では Gm14230 抑制によって失われる増殖性・分化能・老化抵抗性をもつ細胞の状態を「細胞若年性」(cellular juvenescence) として報告した (Tano, et al., 2019)。

遺伝子の発現に伴い、メッセンジャーRNA はスプライシングを通して成熟するが、スプライシングにはパターンの相違があり、オルタナティブ・スプライシングと呼ばれる。オルタナティブ・スプライシングは胎児期には起こることが知られていたが、生後の成長期に起こるかどうかは知られていなかった。本研究では生後のマウス成長期におけるスプライシング解析をゲノムワイドに行い、生後の成長期にもオルタナティブ・スプライシングが広く起きることを世界で初めて明らかにした。高速シーケンサーを用いたゲノムワイド解析の結果、生後の成長期におこるスプライシングとして、「年齢依存的オルタナティブ・スプライシング (age-dependent alternative splicing, ADAS)」を報告した (Kadota et al., 2020)。

ADAS が起こる遺伝子には、代謝にかかわるものが多く、生物は ADAS を通して代謝をより活発で同化に適したものに調節すると考えられた。ADAS の責任分子の 1 つとして SRSF7 を同定した。SRSF7 は若年性遺伝子の 1 つであり、大人になると発現が低下する。SRSF7 は EIF4A2 や RBM7 などの代謝酵素のスプライシングを実行し、同化型のバリエーションを生成する。SRSF7 の発現を抑制すると両遺伝子は大人型のスプライシングを経て異化型バリエーションとなる。これらのことから、若年期には SRSF7 が発現して EIF4A2 や RBM7 の同化型バリエーションを生成することで、代謝バランスを同化優位にすることで組織の成長を促していると考えられた。

SRSF7 は細胞競合において除去される敗者細胞で早期に発現が低下することがわかった。このことから、細胞競合における環境不適合な細胞の除去において細胞若年性の抑制が調節標的となっていると考えられた (Jam, et al., 2021)。

てんかん性脳症 (epileptic encephalopathy) は治療抵抗性の小児神経疾患である。てんかん性脳症の原因遺伝子の 1 つとして知られている TBC1D24 は若年性遺伝子であり、発達期の脳で高発現している。てんかん性脳症の治療戦略を開発するために TBC1D24 の機能解析を行い、本

研究では TBC1D24 が「サイトオーフィディア (cytoophidia)」と呼ばれる細胞内のマクロ構造体を作ることを明らかにした。サイトオーフィディアの形成は TBC1D24 の GTP 分解酵素活性に影響を与えた。これらの知見から TBC1D24 のサイトオーフィディア形成を通して酵素機能が調節されていると考えられた (Morimune et al., 2022)。てんかん性脳症においてはこの機構が異常となっている可能性があり、さらなる研究の実施により創薬標的の同定につなげる。

天然変性タンパク質 (intrinsically disordered protein, IDP) は、定常状態では安定した立体構造をとらない分子群であり、生体機能には不明な点が多い。本研究では若年性遺伝子の 1 つとして着目した BEX1 が天然変性タンパク質であることを物理化学解析により実証した。BEX1 は相分離 (phase separation) を通じて周囲から区画化されたコンパートメントを形成し、内部の GTP 濃度を局所的に高めることにより、GTP を必要とするチューブリン重合反応を促進すると考えられた。BEX1 はチューブリン重合を介して細胞のアンテナ構造である一次繊毛 (primary cilia) の形成にかかわっており、BEX1 の発現を抑制した細胞では一次繊毛が欠損する。BEX1 のノックアウトマウスも一次繊毛の形成が損なわれ、繊毛病 (ciliopathy) を呈した。BEX1 ノックアウトマウスはヒトで繊毛病として報告されている Joubert 症候群に類似した表現型を示し、小脳低形成・網膜異形成・多発性嚢胞腎を呈した (Hibino et al., 2022)。

以上のように、若年性を実現する分子メカニズムの解析により、多くの新規分子のはたらきが解明された。小児期の神経発達に関わる分子が多く同定され、マウスモデルにおいて神経発達異常が引き起こされることが明らかになった。さらなる研究の継続により、小児難病の根治的な治療技術として開発を進める。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Morimune Takao, Tano Ayami, Tanaka Yuya, Yukiue Haruka, Yamamoto Takefumi, Tooyama Ikuo, Maruo Yoshihiro, Nishimura Masaki, Mori Masaki	4. 巻 16
2. 論文標題 Gm14230 controls Tbc1d24 cytoophidia and neuronal cellular juvenescence	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0248517	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Jam Faidruz Azura, Morimune Takao, Tsukamura Atsushi, Tano Ayami, Tanaka Yuya, Mori Yasuhiro, Yamamoto Takefumi, Nishimura Masaki, Tooyama Ikuo, Mori Masaki	4. 巻 10
2. 論文標題 Neuroepithelial cell competition triggers loss of cellular juvenescence	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-74874-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kadota Yosuke, Jam Faidruz Azura, Yukiue Haruka, Terakado Ichiro, Morimune Takao, Tano Ayami, Tanaka Yuya, Akahane Sayumi, Fukumura Mayu, Tooyama Ikuo, Mori Masaki	4. 巻 23
2. 論文標題 Srsf7 Establishes the Juvenile Transcriptome through Age-Dependent Alternative Splicing in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2020.100929	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sato Tempei, Kataoka Kensuke, Ito Yoshiaki, Yokoyama Shigetoshi, Inui Masafumi, Mori Masaki, Takahashi Satoru, Akita Keiichi, Takada Shuji, Ueno-Kudoh Hiroe, Asahara Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Lin28a/let-7 pathway modulates the Hox code via Polycomb regulation during axial patterning in vertebrates	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 536208-53068
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.53608	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Jam Faidruz Azura, Kadota Yosuke, Mendsaikhan Anarmaa, Tooyama Ikuo, Mori Masaki	4. 巻 8
2. 論文標題 Identification of juvenility-associated genes in the mouse hepatocytes and cardiomyocytes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-21445-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tano Ayami, Kadota Yosuke, Morimune Takao, Jam Faidruz Azura, Yukiue Haruka, Bellier Jean-Pierre, Sokoda Tatsuyuki, Maruo Yoshihiro, Tooyama Ikuo, Mori Masaki	4. 巻 132
2. 論文標題 The juvenility-associated long noncoding RNA Gm14230 maintains cellular juvenescence	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cell Science	6. 最初と最後の頁 227801
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jcs.227801	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hibino Emi, Ichiyama Yusuke, Tsukamura Atsushi, Senju Yosuke, Morimune Takao, Ohji Masahito, Maruo Yoshihiro, Nishimura Masaki, Mori Masaki	4. 巻 20
2. 論文標題 Bex1 is essential for ciliogenesis and harbours biomolecular condensate-forming capacity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Biology	6. 最初と最後の頁 1-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12915-022-01246-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計23件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Masaki Mori
2. 発表標題 Age-dependent alternative splicing (ADAS) establishes juvenile transcriptome in the brain.
3. 学会等名 FENS (Federation of European Neuroscience Societies) Forum 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masaki Mori
2. 発表標題 Bex1 is juvenile-expressed IDP implicated in cerebellar and retinal morphogenesis.
3. 学会等名 第63回小児神経学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masaki Mori
2. 発表標題 Age-dependent alternative splicing (ADAS) establishes the juvenile transcriptome in the brain
3. 学会等名 第62回小児神経学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masaki Mori
2. 発表標題 Establishment of juvenile properties by age-dependent alternative splicing (ADAS)
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森 雅樹、森宗孝夫、門田陽介、Faidruz Azura Jam, 田埜郁実、田中雄也、雪上晴加、赤羽紗由美、福村真優、秋田絵里奈、澤井千優、阿坂玲、西平愛、石川敦史、竈子丸佳音
2. 発表標題 小児神経難病の治療法開発を目的とした基礎医学研究への取り組み
3. 学会等名 第46回日本脳科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takao Morimune, Masaki Mori
2. 発表標題 Establishment of the therapeutic approach for pediatric neurological disease utilizing juvenility-associated lncRNA.
3. 学会等名 第46回日本脳科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 雪上晴加、門田陽介、Faidruz Azura Jam, 寺門一郎、森宗孝夫、田埜郁実、田中雄也、赤羽紗由美、福村真優、遠山育夫、森 雅樹
2. 発表標題 若年性遺伝子Srsf7は年齢依存のスプライシングを通して若年性トランスクリプトームを形成する。[奨励賞受賞]
3. 学会等名 第46回日本脳科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Faidruz Azura Jam, Takao Morimune, Yosuke Kadota, Ayami Tano, Sayumi Akahane, Mayu Fukumura, Haruka Yukiue, Yuya Tanaka, Masaki Mori
2. 発表標題 "Elucidation of a new role for cell competition in the brain homeostasis"
3. 学会等名 第46回日本脳科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yosuke Kadota, Faidruz Azura Jam, Takao Morimune, Ayami Tano, Sayumi Akahane, Mayu Fukumura, Haruka Yukiue, Yuya Tanaka, Masaki Mori
2. 発表標題 Conservation of lncRNA between human and mice and their therapeutic potentials for neurological diseases
3. 学会等名 第46回日本脳科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masaki Mori, Takao Morimune, Yosuke Kadota, Faidruz Azura Jam, Ayami Tano, Yuya Tanaka, Haruka Yukiue, Sayumi Akahane, Mayu Fukumura.
2. 発表標題 Utilization of juvenility-associated genes for treating pediatric neurological diseases.
3. 学会等名 第61回小児神経学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takao Morimune, Masaki Mori
2. 発表標題 若年特性を活用した小児神経疾患の治療戦略
3. 学会等名 第61回小児神経学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 雅樹、森宗孝夫、Faidruz Azura Jam、門田陽介、田埜郁実、田中雄也、赤羽紗由美、福村真優、雪上晴加.
2. 発表標題 若年性ロングノンコーディングRNAによる小児難病の創薬標的の拡張
3. 学会等名 第122回日本小児科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森宗孝夫、Faidruz Azura Jam、門田陽介、田埜郁実、田中雄也、雪上晴加、赤羽紗由美、福村真優、丸尾良浩、森 雅樹.
2. 発表標題 脳の小児特性を実現する若年性遺伝子の分子機能
3. 学会等名 第122回日本小児科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masaki Mori, Takao Morimune, Faidruz Azura Jam, Yosuke Kadota, Ayami Tano, Yuya Tanaka, Haruka Yukiue, Sayumi Akahane, Mayu Fukumura
2. 発表標題 Identification of juvenility-associated long noncoding RNAs (JALNCs) as indispensable factors for the juvenile properties of the brain.
3. 学会等名 Society for Neuroscience (SfN) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masaki Mori, Takao Morimune, Yosuke Kadota, Faidruz Azura Jam, Ayami Tano, Yuya Tanaka, Haruka Yukiue, Sayumi Akahane, Mayu Fukumura.
2. 発表標題 Utilization of juvenility-associated genes for treating pediatric neurological diseases.
3. 学会等名 第61回小児神経学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 雅樹、森宗孝夫、Faidruz Azura Jam、門田陽介、田埜郁実、田中雄也、赤羽紗由美、福村真優、雪上晴加.
2. 発表標題 若年性ロングノンコーディングRNAによる小児難病の創薬標的の拡張
3. 学会等名 第122回日本小児科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masaki Mori, Takao Morimune
2. 発表標題 “ Identification of Juvenility-associated Genes in the Mouse Brain ”
3. 学会等名 第45回日本脳科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森 雅樹
2. 発表標題 「マウス脳における若年性遺伝子の解析」
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masaki Mori
2. 発表標題 SRSF7 establishes juvenile transcriptome through age-dependent alternative splicing (ADAS).
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masaki Mori
2. 発表標題 Age-dependent alternative splicing (ADAS) establishes juvenile transcriptome of cardiovascular systems.
3. 学会等名 BCVR 第5回日本循環器学会基礎研究フォーラム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Atsushi Tsukamura, Masaki Mori
2. 発表標題 Cytoophidia-forming capacity of juvenility-associated proteins.
3. 学会等名 BCVR 第5回日本循環器学会基礎研究フォーラム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森 雅樹
2. 発表標題 若年性に着眼した循環器難病の新たな治療開発への取り組み
3. 学会等名 第57回日本小児循環器学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森 雅樹
2. 発表標題 若年性に着眼した循環器難病の新たな再生医療戦略への取り組み
3. 学会等名 第58回日本小児循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室ホームページ <a href="https://mori-lab-for-children.com/">https://mori-lab-for-children.com/</a>
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------