

ヒト希少神経難病にショウジョウバエで挑む

山口 政光

遺伝学・発生学研究のモデル生物として長年使用されてきたショウジョウバエは、近年ヒト疾患研究のモデル生物としても頻繁に用いられるようになっていく。カリフラワー、ニワトリ胚、哺乳動物培養細胞、SV40ウイルス、そしてマウスとさまざまな研究材料を渡り歩いてきた私が最後に到達したモデル生物がショウジョウバエである。ショウジョウバエモデルの有用性について概説した後、それを用いて現在行いつつあるヒト希少神経難病についての研究と、デザイナーとのコラボで行った治療薬探索のための機器開発につながる試みについて紹介する。

モデル生物ショウジョウバエ

キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) は、世界中に分布している体長2~3 mmの双翅目昆虫である(図1)。1910年にMorganが遺伝学研究のモデル生物として取り上げて以来、古典的遺伝学に関する知見の多くがショウジョウバエを用いた研究により確立されている。またその過程でショウジョウバエ遺伝学には欠かせないバランス染色体や可視マーカーとして有用な外部形態突然変異、さらに巨大な唾腺染色体の解析技術が開発された。また1960年代には、Benzerがショウジョウバエを用いた神経系の遺伝解析を開始し、多くの行動



図1. キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*)。遺伝子導入の際に宿主として用いる白眼系統。

異常突然変異の単離がなされた¹⁾。

1980年代の初めには、生殖細胞特異的なトランスポゾン (P-エレメント) を用いた遺伝子導入ショウジョウバエの作製法が開発され、遺伝子工学的研究が可能になった。また同時期にショウジョウバエでホメオボックス遺伝子が相次いで発見され、初期発生における卵の前後軸、背腹軸決定や、体節形成の仕組みが明らかにされて、ショウジョウバエは発生生物学的研究のモデル生物としてもスポットライトを浴びることになる²⁾。

2000年にショウジョウバエのゲノムプロジェクトが完了した。ショウジョウバエの全ゲノムサイズは約160 Mbpでありそのユークロマチン部分の全塩基配列が明らかになっている。引き続き2003年にはヒトゲノム計画が完了して、ヒトとショウジョウバエの全遺伝子を直接比較できるようになった。すると驚くべきことにヒト遺伝子の約70%がショウジョウバエにも存在し、ヒト疾患原因遺伝子に至っては、その約75%がショウジョウバエにも存在していることが明らかになった。そしてそこから、ヒト疾患研究のモデルとしてのショウジョウバエの活躍が始まった。

疾患モデルショウジョウバエ

ここでヒト疾患研究におけるショウジョウバエモデル活用の利点についてまとめたい。

- 1) 遺伝学と発生生物学的知見の豊富な蓄積がある。
- 2) 75%の疾患原因遺伝子がヒトとショウジョウバエで共通である。一般的にショウジョウバエの遺伝子産物のアミノ酸配列を比較すると、酵母や線虫などの他のモデル生物より遥かにヒトに近いことがわかる。また哺乳動物の遺伝子の多くがファミリーを形成しているのに対して、ショウジョウバエの遺伝子はシングル遺伝子であることが多く、ある遺伝子について突然変異系統やノックダウン系統を作製するとその表現型が現れやすい。たとえばヒトのがん抑制遺伝子p53はファミリー遺伝子として他にp63遺伝子とp73遺伝子が存在しているが、ショウジョウバエにはそれらの祖先型と考えられるp53遺伝子ホモログが一つあるのみである。ちなみに線虫や酵母

にはp53遺伝子ホモログは存在していない。

3) 世代時間が約10日間と短く、飼育コストも安い。この迅速性と低コストも研究を行う上で重要である。また成虫の寿命も約70日と短く、ヒトの平均寿命(約70年)を研究室レベルでシミュレーションすることができる。

4) 遺伝子導入系統の作製が容易である。ショウジョウバエ個体への遺伝子導入は、生殖細胞特異的なトランスポゾンとして知られるP-エレメント由来のベクターDNAを、転移酵素を供給できる系統が生んだ受精卵にマイクロインジェクションすることで行う。

5) 多数の個体を同時に取り扱える。ショウジョウバエゲノムには14,000個の遺伝子が存在するが、27,000の突然変異系統が京都工芸繊維大学ショウジョウバエ遺伝資源センターで維持されており、これらがいつでも入手可能である。またゲノムの約95%をカバーする染色体欠失変異系統ライブラリーも整備されており、これらを有効に利用することで、ゲノムワイドな遺伝学的スクリーニングを効率良く行うことができる。これにより、さまざまな疾患の新しい診断マーカーや治療標的候補を探索できる。またエサに混ぜて経口摂取させることで、小分子化合物や天然物などの治療薬候補物質のスクリーニングも可能である。

6) 倫理面での制約が少ない。昆虫は動物愛護法の適応外であり、マウスなどの哺乳動物と比較して実験上の制約が少ない。

このような利点を活かして、さまざまなヒト疾患のショウジョウバエモデルが開発されている^{3,4)}。たとえばがん抑制遺伝子のいくつかは、ショウジョウバエを用いた研究で最初に同定された後にヒトで確認されたように、がん研究のモデルとしてショウジョウバエは重要な役割を果たしてきた。最近ではがんの悪性化や転移の仕組みの研究にもショウジョウバエモデルが利用されている。またインスリン経路もヒトとショウジョウバエで非常に良く保存されており、1型と2型糖尿病モデルがショウジョウバエでも開発されている。最近ではメタボリックシンドロームや老化促進モデルショウジョウバエも開発され、疾患治療薬候補物質だけでなく、さまざまな健康食品の効能検定にも活用されつつある。

しかしながら、何と言ってもこれまでもっともショウジョウバエモデルが成功を収めているのは、さまざまなヒト神経疾患に関する研究においてである。ポリグルタミンを発現させるポリグルタミン病モデルショウジョウバエ、アミロイドβタンパク質などを発現させるアルツハイマー病モデルショウジョウバエやαシヌクレインなどを発現させるパーキンソン病モデルなどが開発されて

いる。それらが示す病態の解析を通じた発症の仕組みの研究や、治療薬候補物質のスクリーニングなど、これらのショウジョウバエモデルは幅広く用いられている³⁾。患者数の多いこれらのヒト神経疾患に関する研究には、大学、公的研究機関や製薬系企業の多くの研究者が参画し、患者の病態をよく反映するマウスモデルも開発されている。一方、患者数の少ないヒト希少神経難病に目を向けて見ると、研究者の数も少なく、その疾患の正式名称すら社会的に知られていないものもある。言い換えれば希少難病はある意味社会から置き去りにされているのである。筆者はこのようなヒト希少神経難病の研究に、ショウジョウバエモデルはより大きな力を発揮すると思っている。

ALSモデルショウジョウバエ

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は、古くはプロ野球大リーガーのルー・ゲーリックが罹患したことで有名である。最近ではALS患者のストーリーがテレビドラマや映画でもたびたび取り上げられ、YouTube上のアイスバケツキャンペーンなどを通じて知られるようになっていく。ALS患者は運動神経の障害によって全身の筋肉が進行性に萎縮・麻痺して行き、人工呼吸器を装着しなければ発症から2~5年で死に至る。人工呼吸器を装着すれば生きていくことはできるが、四肢の運動・会話・嚥下などはまったく不可能であるにもかかわらず意識や痛覚は保たれているというきわめて辛い状態を長期間経験することになる。このように非常に過酷な神経難病であるにも関わらず、現在その発症や進行をくい止める有効な治療法は開発されていない。家族性ALSの原因遺伝子はこれまでに約30個同定されており、ショウジョウバエモデルも開発されつつある⁵⁾。筆者らはALSの原因遺伝子の一つであるFUSという遺伝子に注目した。FUSはRNA認識ドメインを持ち、RNAのプロセッシングや輸送など広くRNA代謝に関わると推測されている。

京都府立医科大学の東助教・徳田教授と共同でFUSのショウジョウバエホモログであるCazをノックダウンしたショウジョウバエモデルを世界に先駆けて樹立した⁶⁾。神経特異的にCazをノックダウンした成虫は運動能力の低下を示し、それに対応して神経筋接合部という運動神経の終末とその神経が支配している筋肉が接する部分のシナプス長の短縮が観察された(図2)。またこの神経筋接合部のシナプス形態異常を修飾する因子として、ter94(ヒトVCPのショウジョウバエホモログ)を同定した⁷⁾。ATP分解酵素活性を持つVCPはそれ自身がALSの原因因子の一つであり、タンパク質の分解・輸送・

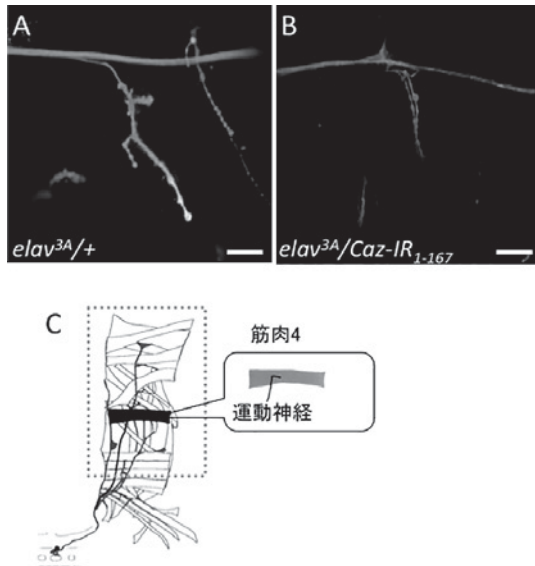


図2. ALSモデルショウジョウバエの神経筋接合部のシナプス。A) コントロール系統。B) 神経特異的Cazノックダウン系統。C) 神経筋接合部の模式図。

ミトコンドリア機能の維持やオートファジーなどさまざまな生命現象に関わる多機能性タンパク質として知られている。興味深いことに、ter94はCaz以外の他のALS原因遺伝子とも遺伝学的相互作用することが明らかになりつつある。

CMTモデルショウジョウバエ

他のヒト希少神経難病として筆者らは、シャルコー・マリー・トゥース病 (CMT) にも焦点を当てて研究を進めている。CMTは、1886年に三人の神経学者が初めて報告した遺伝性の末梢神経疾患の総称である。主な症状は筋萎縮・筋肉低下などによる運動障害と手足の感覚低下や異常感覚などの感覚症状であり、運動神経と感覚神経の両方が障害される。寿命の短縮にすぐに直結する疾患ではないが、主に思春期で発病して以降、徐々に症状が悪化して行く進行性の難病である。最終的には車椅子生活になったり、職場で早期退職を余儀なくされたりと、生活が困窮する場合も多い。日本全国にCMT患者は5千人から1万人程度いると推測されているが、社会的にはこの病気の存在はほとんど知られていない。現在までに50種類以上の原因遺伝子が同定されているが、詳細な病態は未だ解明されておらず、有効な治療法も確立されていない。

筆者らは、CMT原因遺伝子の一つであるFig4に注目した研究を進めている。Fig4は脂質シグナル分子であるフォスフォイノシチド代謝に関わる酵素である。ショ

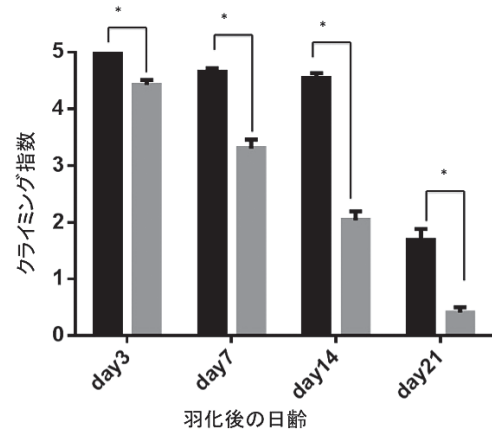


図3. CMTモデルショウジョウバエ成虫の運動能力。黒) コントロール系統。グレー) 神経特異的dFig4ノックダウン系統。

ウジョウバエにはこのFig4のホモログとしてdFig4が存在している。神経特異的dFig4ノックダウンショウジョウバエでは運動能力の低下 (図3) と神経筋接合部のシナプス長の短縮、軸索投射異常、そして寿命の短縮などが観察されており、このdFig4ノックダウンショウジョウバエはCMT患者の病態をよく反映するモデルとして有望である⁸⁾。興味深いことに、それぞれ機能の異なる他のCMT原因遺伝子のショウジョウバエホモログをノックダウンしても同様の表現型を示すことが明らかになりつつある。このことは原因遺伝子がそれぞれ異なっても、それらの下流に存在する共通の遺伝子やシグナル経路を経由して最終的には同じ表現型を示すに至るものと推測される。今後ショウジョウバエの遺伝学的スクリーニングにより、これらの共通の遺伝子やシグナル経路が同定できると、それらを標的とした創薬デザインが可能になると期待できる。

デザイナーとのコラボ

京都工芸繊維大学は大学機能強化の一環として、海外の若手デザイナーと学内研究者との共同プロジェクトを実施し、新しい価値を創造する活動を行っている。以前筆者が学部生主体のiGEM (国際遺伝子改変マシーンコンテスト) 活動の顧問としてバイオアートに携わっていたことから、ロンドンにある英国王立芸術学院 (Royal College of Arts) のF. Kolkmanからの共同プロジェクトの申し出があり、2015年9月から3か月間、本学KYOTO Design Labにおいてコラボすることになった。彼が当初希望していたバイオアートとは無関係になったが、京都府立医科大学神経内科学教室の若手の先生やCMT友の会の方々とプロジェクトチームを作って活動を始めた。

プロジェクトチームは、さまざまな角度から検討して、以下の問題提起を行った。

1) CMTのように社会的な認知度が低く、患者数が少ないために治療薬の開発がビジネスとして成立しにくい希少難病の医薬品開発において、製薬会社の興味を惹くような戦略を考え出すことは可能か？

2) “デザイン之力”でショウジョウバエモデルの有用性やCMTを社会に知ってもらうことは可能か？

Kolkmanは短期間でショウジョウバエとCMTについて学び、最終的にCMTモデルショウジョウバエを利用して、患者自身が治療薬を見つける活動に参加する、「家庭用疾患治療薬スクリーニング・キット（プロトタイプ機器）」(図4)を開発した。これはCMTモデルショウジョウバエを薬剤化合物のテストに用い、患者自身が自宅で治療薬候補物質を見つけ出し、検証に参加するという新しいビジネスモデルである。まず筆者ら研究者チームが患者さんごとに変異のある原因遺伝子を特定する。さらにこの変異遺伝子をショウジョウバエに導入して、オーダーメイドCMTモデルショウジョウバエを作製し、製薬会社に提供する。製薬会社は治療薬候補化合物をトレーに入れた餌に添加後、CMTモデルショウジョウバエを入れて、患者さんに送付する。患者さんは自宅で、トレーを機器に装着し数日間飼育後トレーを回転させる。すると遠心力によりハエは外縁部に押しやられるが、回転が停止するとハエは中央部に戻ろうと動く。この動きを機械に装着したウェブカメラで撮影し、その運動速度をコンピューターで定量化する。定量化されたデータ



図4. 家庭用疾患治療薬スクリーニング・キットのプロトタイプ

は製薬会社にネット経由で送られるという手はずになる。CMTモデルショウジョウバエが示す運動能力の低下が化合物の摂食により回復すると、その化合物が治療薬の候補となるという仕組みである。これだと労働力は患者さんが提供するので製薬会社にとってはリスクヘッジとなり、逆に治療薬開発に対する患者さんの発言権も増すはずである。そしてショウジョウバエの有用性も社会に知ってもらうことができる。残念ながら組換え生物使用や薬事法などによる規制があるので、ただちに家庭で実施するのは無理だが、社会への問題提起とはなると思われる。2015年末のKYOTO Design Lab東京ギャラリーでの展覧会を皮切りに、今年はロンドンのサイエンスミュージアムなどヨーロッパ各地での展覧会ツアーが行われる。

「智を愛する学問」であるサイエンスは新しい概念の構築をめざして真理を探求する。大腸菌、酵母、線虫、ショウジョウバエ、アフリカツメガエル、マウス、シロイヌナズナなどさまざまなモデル生物が開発され、それと並行して研究の細分化と深化が急速に進んだため、一般の人々には各モデル生物の意義も研究内容も理解しにくいものになってしまった。また細分化と深化ゆえに研究者もとかく「木を見て森を見ず」になりがちである。サイエンスがデザインと出会い融合すると、人々に親しみやすく理解しやすいものに変貌する。また研究者もデザイナーの豊かな発想に触れることにより、社会との関わりも含めて俯瞰的に自分の研究の可能性を見つめ直すことができる。この共同プロジェクトを通じて、ヒト希少難病克服への疾患モデルショウジョウバエの無限の可能性をわかりやすく社会に発信することができるのではないかと期待している。

文 献

- 1) 堀田凱樹：ショウジョウバエの発生遺伝学（シリーズ分子生物学の進歩9），p. 1, 丸善（1989）。
- 2) 西田育巧：昆虫[超能力の秘密]（ネオ生物学シリーズ6），p. 1, 共立出版（1996）。
- 3) Pandey, U. B. and Nichols, C. D.: *Pharmacol. Rev.*, **63**, 411 (2011).
- 4) Ugur, B., *et al.*: *Disease Models & Mechanisms*, **9**, 235 (2016).
- 5) Casci, I. and Pandey, U. B.: *Brain Res.*, **1607**, 47 (2015).
- 6) Sasayama, H., *et al.*: *PLoS ONE*, **7**, e39483 (2012).
- 7) Azuma, Y., *et al.*: *Hum. Mol. Genet.*, **23**, 3467 (2014).
- 8) Kyotani, A., *et al.*: *Exp. Neurol.*, **277**, 86 (2016).