

2023年12月27日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学  
国立大学法人熊本大学  
国立大学法人筑波大学

## 可逆性小児急性肝不全の発症機序の解明 -治療薬開発に向けた道筋-

### 【発表のポイント】

- 可逆性小児急性肝不全の原因の一つはミトコンドリア酵素の MTU1 遺伝子の変異ですが、疾患発症の仕組みは不明でした。
- MTU1 遺伝子の疾患関連変異の作用を検討し、変異がミトコンドリア tRNA 硫黄修飾<sup>(注1)</sup>の低下を引き起こすことで発症に寄与することを明らかにしました。また、MTU1 変異の種類によって硫黄修飾障害率が異なり、病態の重篤度に大きく影響することが分かりました。
- MTU1 タンパク質を分解してしまう CLPP<sup>(注2)</sup> 遺伝子の発現を抑制することで、ミトコンドリア tRNA 硫黄修飾の回復に成功しました。

### 【概要】

可逆性小児急性肝不全は、重度の肝機能低下を主症状とする希少小児疾患であり、出生後まもなく発症し死に至るケースも報告されています。可逆性小児肝不全の原因として MTU1 遺伝子の変異が知られています。一方、患者で報告されている MTU1 遺伝子の変異は非常に多様であり、それぞれの変異が疾患の発症に与える影響は不明でした。

東北大学加齢医学研究所の魏范研教授、Raja Norazireen Raja Ahmad 研究員らは、熊本大学大学院生命科学研究部富澤一仁教授、筑波大学計算科学研究センター重田育照教授らとの共同研究により、可逆性小児肝不全患者で報告されている 17 種類の MTU1 遺伝子変異の作用を明らかにしました。これらの変異は MTU1 の酵素活性とタンパク量の低下を引き起こすことで、MTU1 によるミトコンドリア tRNA 硫黄修飾を大きく障害し、ミトコンドリアでのタンパク質翻訳とエネルギー代謝の低下原因となることがわかりました。

また、MTU1 タンパク量低下の原因は、CLPP による分解であることを突き止めました。さらに、CLPP の機能抑制が MTU1 タンパク量の増加を介して、ミトコンドリア tRNA 硫黄修飾の回復に成功し、MTU1 の分解抑制が可逆性小児肝不全の治療につながる可能性が示されました。

本研究結果は 2023 年 12 月 19 日付の欧科学誌 Nucleic Acids Research に掲載されました。

## 【詳細な説明】

### 研究の背景

ミトコンドリアは細胞のエネルギー代謝を司る中心的な細胞小器官であり、独自のゲノムDNAを有します。ミトコンドリアDNAには22種類の移転RNA (tRNA) がコードされており、同じくミトコンドリアDNAから転写される13種類のmRNAをタンパク質に翻訳するために用いられています。ミトコンドリアtRNAの特徴として、様々な化学修飾が塩基に施されていることが挙げられます。ミトコンドリアtRNAのうち、3種類のtRNAに硫黄が付加されることが知られており、また、その修飾を媒介する酵素としてMTU1が同定されています。MTU1を欠損すると、ミトコンドリア内のタンパク質翻訳が停止し、その結果、エネルギー代謝に必要なタンパク質が作られなくなり、細胞機能が急激に低下します。MTU1を欠損したマウスは胚発生ができなくなることが示すように、MTU1によるミトコンドリアtRNAの硫黄修飾は生命の営みに不可欠です。

MTU1は可逆性小児急性肝障害の発症と関連しています。この疾患は新生児期にごくまれに発症する希少疾患であり、世界で50数例報告されています。これらの患者は急激な肝機能障害、心不全、腎機能低下といった症状を呈し、死に至る症例も報告されています。一方、急性期の肝障害を乗り切ってその後症状が沈静化するケースも報告されています。なぜこのように症状に大きな違いがあるのかについては分かっていません。

可逆性小児急性肝障害の患者において、MTU1遺伝子に様々な変異が存在することが知られており、疾患原因として考えられています。しかし、個々の遺伝子変異がMTU1によるミトコンドリアtRNAの硫黄修飾にどのように影響するのかについて詳細に調べられておらず、発症の分子機構が不明でした。また、発症の分子機構が解明されていないため、この疾患に対しては対症療法以外に治療法がありませんでした。

### 今回の取り組み

本研究では、小児急性肝障害患者で見ついている17種類の疾患関連変異がMTU1の硫黄修飾活性にどのように影響するかを調べました。まず正常細胞においてMTU1遺伝子の機能をなくし、その後、患者で見ついている変異型MTU1を同細胞導入しました。17種類の変異型細胞を作製し、ミトコンドリアtRNAの硫黄修飾レベル、そして変異型MTU1のタンパク量などを詳細に調べた結果、変異型MTU1を有する細胞では、正常細胞と比べて、MTU1によるミトコンドリアtRNAの硫黄修飾レベルが劇的に低下しました(図2A)。興味深いことに、多くのMTU1変異細胞については硫黄修飾がある程度残存しており、部分的機能障害型変異であることが示されました。重要なことに、各変異細胞における硫黄修飾の障害度と臨床所見との関連性を調べた結果、障害率に

よって患者の生存率が大きく異なることが分かりました。正常と比べて硫黄修飾が90%以上障害される変異型 MTU1 を有する患者は生存率が非常に悪いのに対して、正常と比べて硫黄修飾が90%以下障害される変異型 MTU1 を有する患者は生存率が高いものでした（図 2B）。このように、患者に見られた生存率の差は、保有する変異 MTU1 の残存硫黄修飾活性に大きく依存することが分かりました。

一方、正常細胞と変異型 MTU1 を有する細胞における MTU1 のタンパク量を調べた結果、正常型 MTU1 と比べて、変異型 MTU1 タンパクは素早く分解され、細胞での存在量が少ないことが分かりました。MTU1 がどのプロテアーゼによって分解されるかを調べるため、遺伝子ノックダウンや免疫沈降などの手法を用いた実験を行いました。その結果、MTU1 は CLPP と呼ばれるプロテアーゼによって分解されることが分かりました。重要なことに、変異型 MTU1 を有する細胞において CLPP 遺伝子の発現を抑制した結果、変異型 MTU1 タンパク量が増加し、さらにミトコンドリア tRNA の硫黄修飾量が顕著に亢進しました（図 2C）。さらに、変異型 MTU1 はなぜ CLPP によって分解されやすいかを調べるため、コンピューターを用いた構造シミュレーションを行いました。その結果、変異型 MTU1 は正常型と比べてわずかに構造変化が生じていたことが分かりました。

これらの結果から、変異型 MTU1 による疾患発症機構の一端が明らかになりました。すなわち、疾患関連アミノ酸変異により MTU1 が少し変形した結果、CLPP によって分解されやすくなります。そして、変異型 MTU1 はまだ活性が残っているにもかかわらず、全体的にタンパク量が低下するため、効率的にミトコンドリア tRNA に硫黄修飾を付加できなくなり、そしてミトコンドリアタンパク翻訳とエネルギー代謝が低下し、最終的に疾患発症に至ると考えられました。さらに本研究により、CLPP の抑制が MTU1 の分解を阻止することで、タンパク量と硫黄修飾量の回復につながることを示され、可逆性小児急性肝不全の治療に道筋をつける結果となりました。

## **今後の展開**

今回の研究で、MTU1 病原性変異の意義と分子機序を明らかにしたことで、難病治療に新しい方向性を示すことができました。まず、多数の変異型 MTU1 の機能解析と疾患との関連を調べ、重症化しやすい変異を同定したことで、変異の種類に応じて症状が激化する前から肝機能の保全といった介入が可能になり、重症化の阻止と治療効果の最大化が期待されます。また、本研究により CLPP 阻害が硫黄修飾の回復につながることを示されたことから、将来的に CLPP 阻害剤を開発できれば、小児急性肝不全という難病の治療薬を創出することが可能になります。

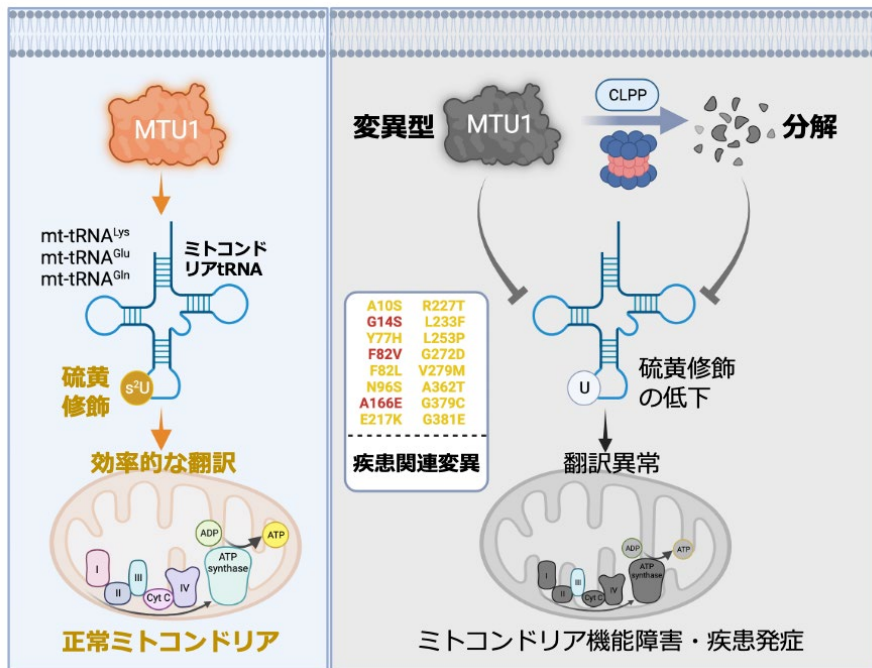


図 1. MTU1 病原性変異によるミトコンドリア機能障害と疾患発症の分子機構

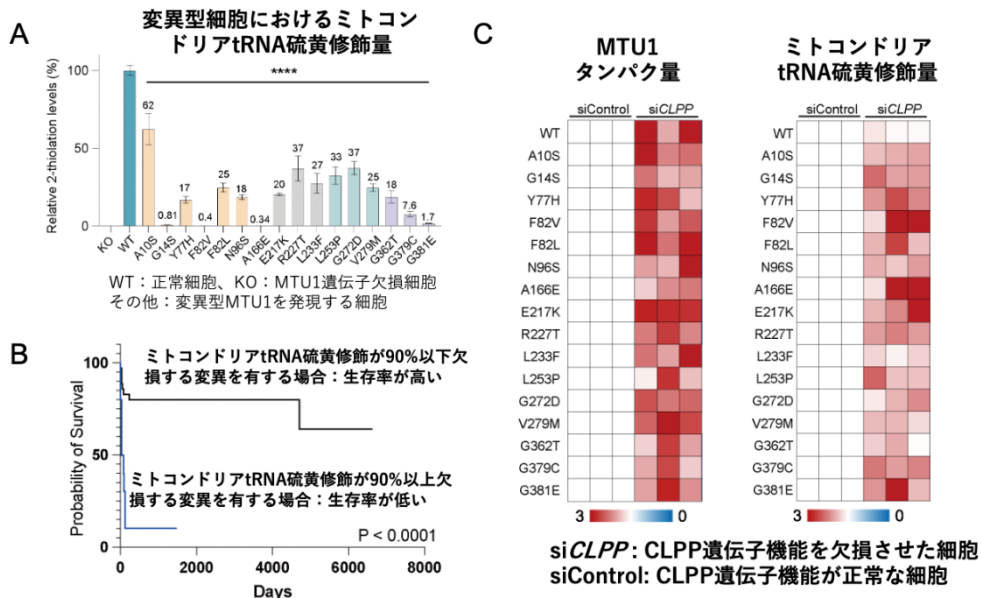


図 2. 疾患関連 MTU1 がミトコンドリア tRNA 硫黄修飾への影響 (A)、重篤度との関連 (B)、CLPP 抑制による硫黄修飾の回復 (C)。

### 【謝辞】

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金（基盤研究（B）

（JP21H02659）、学術変革領域研究（A）「新興硫黄生物学が拓く生命原理変革」（硫黄生物学）

（JP21H05265）、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業 ERATO「鈴木 RNA 修飾生命機能プロジェクト（JPMJER2002）」(研究総括:鈴木 勉)、創発的研究支援事業（FOREST JPMJFR205Y）等の支援を受けて行われました。

### 【用語説明】

注1. tRNA : 80 塩基前後の長さを有する小分子 RNA であり、末端にアミノ酸を結合している。tRNA は mRNA と結合し遺伝子暗号を解読することで、mRNA の設計図通りにタンパク質が合成される。

注2. CLPP : Endopeptidase Clp の略であり、ミトコンドリアの内腔に局在するエンドペプチダーゼである。ミトコンドリア内腔において様々なタンパク質を分解し、タンパク質の恒常性維持に必要である。

### 【論文情報】

タイトル : Pathological mutations promote proteolysis of mitochondrial tRNA-specific 2-thiouridylase 1 (MTU1) via mitochondrial caseinolytic peptidase (CLPP)

著者 :

Raja Norazireen Raja Ahmad, Long-Teng Zhang, Rikuri Morita, Haruna Tani, Yong Wu, Takeshi Chujo, Akiko Ogawa, Ryuhei Harada, Yasuteru Shigeta, Kazuhito Tomizawa, Fan-Yan Wei

\*責任著者 : 東北大学加齢医学研究所 教授 魏 范研

掲載誌 : Nucleic Acids Research

DOI: 10.1093/nar/gkad1197

URL: [https://academic.oup.com/nar/advance-article-abstract/doi/10.1093/nar/gkad1197/7479383?utm\\_source=advanceaccess&utm\\_campaign=nar&utm\\_medium=email](https://academic.oup.com/nar/advance-article-abstract/doi/10.1093/nar/gkad1197/7479383?utm_source=advanceaccess&utm_campaign=nar&utm_medium=email)

**【問い合わせ先】**

(研究に関すること)

東北大学加齢医学研究所モトミクス医学分野

教授 魏范研

TEL:022-717-8562

Email: fanyan.wei.d3@tohoku.ac.jp

熊本大学大学院生命科学研究部 分子生理学講座

教授 富澤 一仁

TEL: 096-373-5051

Email: tomikt@kumamoto-u.ac.jp

筑波大学計算科学研究センター

教授 重田育照

TEL: 029-853-6260

Email: shigeta@ccs.tsukuba.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学加齢医学研究所

広報情報室

TEL: 022-717-8443

E-mail: ida-pr-office@grp.tohoku.ac.jp

熊本大学総務部総務課広報戦略室

TEL: 096-342-3269

Email: sos-koho@jimu.kumamoto-u.ac.jp

筑波大学計算科学研究センター広報・戦略室

TEL: 029-853-6260

Email: sekiya@ccs.tsukuba.ac.jp