

28 CFTR modulator の薬効増強薬標的分子の同定 沖米田 司

【目的】 嚢胞性線維症 (Cystic Fibrosis : CF、平均寿命 40 歳) は致死性の劣性遺伝病であり、塩素イオンチャネル CFTR 遺伝子変異 (半数以上は $\Delta F508$ ホモ変異) により発症する単一遺伝病である。患者の寿命中央値は約 40 歳で、未だ根本治療法は確立されていない。近年上市された CF 治療剤 (CFTR modulator) の有効性は低く、その薬効を増強するためには、 $\Delta F508$ -CFTR の形質膜発現量を十分に改善する必要がある。これまでの我々の研究から、CF 治療剤の薬効を増強するためには、① $\Delta F508$ -NBD1 不安定性と② $\Delta F508$ -CFTR 形質膜不安定性を改善する必要がある (図)。本研究では、我々が独自に開発した形質膜 CFTR 簡便標識法と、比較的安価に入手可能となったプール型ゲノムワイド sgRNA ライブラリーを利用することで、CF 治療剤の薬効抑制に関わる分子の全貌解明を行った (図)。

【方法および結果】 sgRNA 表現型スクリーニングを行うために、 $\Delta F508$ -CFTR-3HA 及び Cas9 安定発現気道上皮細胞 (CFBE-tet i $\Delta F508$ CFTR-3HA/Cas9) を樹立した。樹立した細胞における CF 治療剤の有効性を評価した結果、本細胞においても部分的な CF 治療剤の有効性を定量できた。CF 治療剤の薬効を増強する治療標的分子を同定するために、sgRNA 表現型スクリーニングを行った。本細胞に、ゲノムワイド sgRNA ライブラリー発現レンチウイルスを感染後、薬剤選抜し、sgRNA-mCherry 安定発現細胞を樹立した。樹立した細胞に CF 治療剤を 37°C で 2 日間処理後、細胞表面の $\Delta F508$ -CFTR を蛍光標識し、フローサイトメトリーにより解析した。パイロットテストとして、全ゲノムの 10% をカバーする sgRNA ライブラリー発現細胞を用いた。その結果、CF 治療剤処理で $\Delta F508$ -CFTR の形質膜発現が増加し、約 6% の細胞で劇的な増加が観察された。しかしながら、sgRNA 発現細胞において、CF 治療剤の有効性は低下し、今回テストした遺伝子集団においては、CF 治療剤の有効性を増強するものは得ることができなかった。

本研究の目的

