
TDP-43 プロテノパチー： 分子病態解明へのアプローチ

Molecular pathogenesis of TDP-43 proteinopathy

慶應義塾大学医学部神経内科／専任講師

伊東大介*

1. はじめに

2007年に Arai らおよび Neumann らは、孤発性 ALS と前頭側頭葉変性症 (FTLD) の神経細胞内に知られていたユビキチン陽性構造物が、RNA 結合蛋白質 TDP-43 を構成成分とすることが同定された^{1,2)}。この発見に続き、家族性 ALS より、変異型 TDP-43 が相次いで発表され、本蛋白の異常が運動ニューロン変性に一時的に作用することがしめされ、TDP-43 プロテノパチーという新しい疾患概念が提唱された。

これにより、頻度の高い Age-related neuro-degenerative disorders のほとんどは、タウオパチー、 α シンクレスレオパチーそして TDP-43 プロテノパチーの 3 つに集約され、いずれも異常蛋白質の蓄積が変性部位にみとめ、蛋白品質管理機構が共通の病態と考えられるにいたった。我々は、TDP-43 プロテノパチーの分子病態に注目し、おもに培養細胞の発現型を中心に解析を進めている。

2. TDP-43 蛋白アイソホーム

TDP-43 蛋白の機能は、本来 HIV の調節領域に結合する蛋白として同定された³⁾。その後、RNA 結合蛋白として CFTR のスプライシングを調節する機能が報告されている⁴⁾が、真の機能は不明である。我々は、TDP-43 プロテノパチーの分子機構を解明するにあたり、TDP-43 の生化学、細胞生物学的検討を加えた。TDP-43 を発現させると 35kDa、25kDa の C 末端断片 (CTF) (p35、p25) が観察された。この断片の産生は、カスパーゼ 3 欠損マウス繊維芽細胞に

おいても観察され、Zhang YJ らが報告しているカスパーゼ 3 依存性 CTF とは異なっていることが示めされた⁵⁾。そこで、欠損変異体、アラニンスキャンを用いて検討したところ Met⁸⁵、162-167 アミノ酸残基が、それぞれ p35、p25 のアイソホームの産生に関与していることがわかった。さらに、*in vitro* translation assay により、p35、p25 は、新規の開始コドン (alternative Initiation Codon) から産生されていることを見出した。

3. 35kDaC 末端断片と Stress granule (SG) の形成

RNA 結合蛋白の一部は、細胞質内に Stress granule や processing body などの細胞内小器官に集積し、RNA 代謝に関与することが知られている⁶⁾。そこで、p35 を培養細胞に強制発現すると細胞質に封入体を形成することを確認した。それは、PABP、HuR、G3BP などの SG の構成蛋白と共存していた (図 1)⁷⁾。さらに、SG 形成阻害剤の ementin で封入体の形成は抑制された。SG は、細胞ストレス時の、mRNA の安定化、翻訳抑制を開始、異常な蛋白の蓄積の防御機構として働くことが知られている⁶⁾。したがって、p35 が SG を通じて RNA 品質管理機構に関与していることが示された。図 2 に現在我々が考える、TDP-43 プロテノパチーの分子機構を示す。

4. おわりに

近年になり運動ニューロン疾患と RNA 代謝異常を示すエビデンスが集積しつつある。孤発性 ALS において疾患特異的、細胞選択的に AMPA 受容体

* Daisuke Ito: Assistant Professor, Department of Neurology School of Medicine, Keio University.

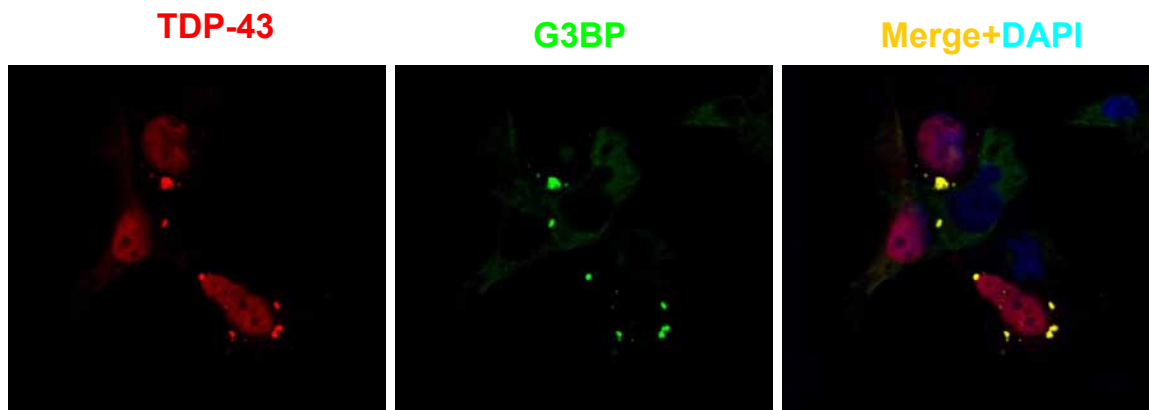


図1 35kDaC 末端断片の発現と Stress granule (SG) の形成

35kDaC 末端断片と SG のマーカーである GFP-G3BP を HeLa 細胞に共発現し、共焦点顕微鏡で観察した。

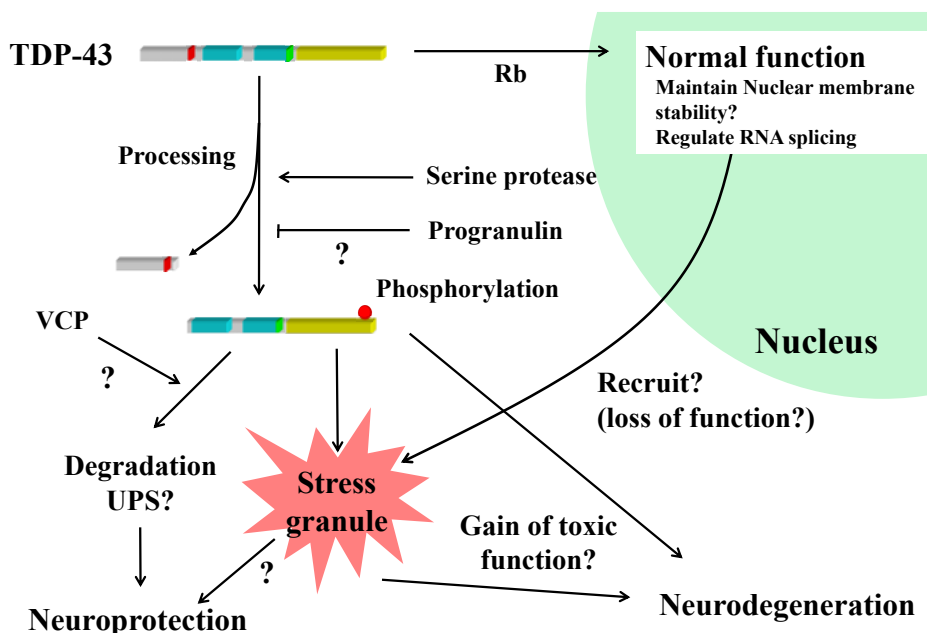


図2 TDP-43 蛋白と Stress Granule 形成

GluR2 サブユニットの RNA 編集率が低下し、興奮性アミノ酸の脆弱性を引き起こしていることが示唆されている⁸⁾。また、脊髄性筋萎縮症の原因遺伝子 SMN も SG の形成に関与することが示されている⁹⁾。さらに、最近、16 番染色体リンクする家族性 ALS (ALS6) の原因遺伝子も、RNA 結合蛋白である fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS) であることが示された^{10, 11)}。これらのことより RNA 品質管理機構の破綻は、運動ニューロン疾患の共通の分子病態である可能性が示唆され、新たな治療ターゲットとして期待される。

文献

- 1) Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Ikeda K, Nonaka T, Mori H, et al. TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006 Dec 22; 351(3): 602-11.
- 2) Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science.* 2006 Oct 6; 314(5796): 130-3.

- 3) Ou SH, Wu F, Harrich D, Garcia-Martinez LF, Gaynor RB. Cloning and characterization of a novel cellular protein, TDP-43, that binds to human immunodeficiency virus type 1 TAR DNA sequence motifs. *J Virol*. 1995 Jun; 69(6): 3584-96.
 - 4) Buratti E, Baralle FE. Characterization and functional implications of the RNA binding properties of nuclear factor TDP-43, a novel splicing regulator of CFTR exon 9. *J Biol Chem*. 2001 Sep 28; 276(39): 36337-43.
 - 5) Zhang YJ, Xu YF, Dickey CA, Buratti E, Baralle F, Bailey R, et al. Progranulin mediates caspase-dependent cleavage of TAR DNA binding protein-43. *J Neurosci*. 2007 Sep 26; 27(39): 10530-4.
 - 6) Kedersha N, Stoecklin G, Ayodele M, Yacono P, Lykke-Andersen J, Fritzler MJ, et al. Stress granules and processing bodies are dynamically linked sites of mRNP remodeling. *J Cell Biol*. 2005 Jun 20; 169(6): 871-84.
 - 7) Kedersha N, Anderson P. Mammalian stress granules and processing bodies. *Methods Enzymol*. 2007; 431: 61-81.
 - 8) Kawahara Y, Ito K, Sun H, Aizawa H, Kanazawa I, Kwak S. Glutamate receptors: RNA editing and death of motor neurons. *Nature*. 2004 Feb 26; 427(6977): 801.
 - 9) Hua Y, Zhou J. Survival motor neuron protein facilitates assembly of stress granules. *FEBS Lett*. 2004 Aug 13; 572(1-3): 69-74.
 - 10) Vance C, Rogelj B, Hortobagyi T, De Vos KJ, Nishimura AL, Sreedharan J, et al. Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science*. 2009 Feb 27; 323(5918): 1208-11.
 - 11) Kwiatkowski TJ, Jr., Bosco DA, Leclerc AL, Tamrazian E, Vanderburg CR, Russ C, et al. Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science*. 2009 Feb 27; 323(5918): 1205-8.
- この論文は、平成 21 年 7 月 25 日 (土) 第 23 回老年期認知症研究会で発表された内容です。