

課題番号 15

RNA 結合タンパク質に着目した ALS 病態機序の解明

[1] 組織

代表者：渡辺 靖章

(東北大学大学院医学系研究科)

対応者：渡辺 数基

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：鈴木 直輝

(東北大学大学院医学系研究科)

研究費：物件費 13 万円

[2] 研究経過

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis : ALS) は、脳・脊髄からの命令を筋肉に伝える運動ニューロン (運動神経) が障害される神経難病の代表的疾患であり、その最大の危険因子は加齢である。片側上肢の筋萎縮にはじまり反対側上肢、両下肢へ筋萎縮が進行し言語障害、嚥下困難などの球麻痺症状および呼吸筋麻痺が生じるなど、著しい QOL の低下をきたすことが知られている (図 1)。発症後 2-5 年で呼吸不全のために死亡に至るケースが多いが、呼吸筋をふくめた全身の筋萎縮および脱力にも関わらず知能などの高次機能や体性感覚は保たれるため、ALS は神経疾患のなかで最も過酷な疾患とも言える。しかし症状の進行を抑制する薬剤は存在するものの、現在までに根本的な治療法は確立されておらず、ALS の病態の理解と発症予防及び治療法の開発が喫緊の課題である。

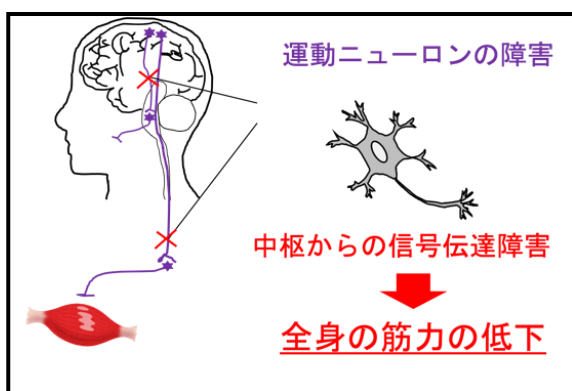


図 1: ALS 病態の概要

近年、ALS の発症に関連するものとして ALS 原因遺伝子の翻訳産物である RNA 結合タンパク質 (ALS-associated RNA-binding protein: ALS-RBP) が注

目を集めている。代表的な ALS-RBP として主に核に局在する TDP-43 が挙げられるが、その機能として転写・翻訳制御、スプライシング制御など多面的な RNA 制御に関する機能がこれまで報告されている (Tziortzouda P et al., Nat Rev Neurosci. 2021)。孤発性を含む ALS 患者の運動ニューロンでは、TDP-43 の核外漏出がみられ、TDP-43 の細胞質における毒性獲得と核内での機能喪失が ALS 病態の主要な要因であると考えられている。興味深いことに、他の ALS-RBP も一部の ALS 患者の運動ニューロンでは核から喪失していることが報告されており (Akcimen F et al., Nat Rev Genet. 2023)、異なる ALS-RBP によって共通の標的遺伝子が制御されているとすると、ALS-RBP の機能喪失により、神経変性を惹起する共通の病的カスケードが誘導される可能性がある。

これまで申請者は、ALS-RBP である TDP-43, FUS, Matrin-3, hnRNPA1 をそれぞれ欠損した神経系細胞株 (SH-SY5Y 細胞) を作製したところ、いずれの細胞でもスプライシング異常が認められる DCTN1 を同定した。DCTN1 は軸索輸送に関与することが知られているため、DCTN1 が ALS-RBP の主要標的因子であることが推察される。様々な ALS-RBP がいずれも DCTN1 のスプライシングの制御を介して ALS の発症に寄与していることが明らかとなれば、複数の ALS-RBP が関わる病的メカニズムに対して共通の治療標的を同定することが期待され、ALS の治療法開発の新しいアプローチを提示できる。そこで本研究では、iPS 細胞由来運動ニューロンと動物モデルを駆使し、ALS-RBP の核内機能喪失が DCTN1 のスプライシング異常を介して神経変性を惹起する機序を明らかにすることを目的とした。

以下、研究活動状況の概要を記す。

本年度は、受け入れ研究者である渡辺数基助教と、1 か月に 1 度程度の頻度で対面にて研究打ち合わせを行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

ALS に関連する RNA 結合タンパク質 (TDP-43、MATR3、FUS、hnRNPA1) の核内機能低下が、シナプス前終末の維持に必須な UNC13A の発現制御へどのように波及するかを検証し、異なる RBP の機能喪失が共通の下流機序 (UNC13A 発現低下) に収束

しうるかを評価した。

1) FUS P525L/+ iPSC 由来運動ニューロンにおける REST/UNC13A 発現異常の検証

FUS 核移行シグナル変異を有する FUS P525L/+ iPSC 由来運動ニューロンを用いて、FUS 機能低下が REST および UNC13A 発現に与える影響を検証した。まず、変異 FUS の核外移行を免疫染色で確認したうえで、RT-qPCR により REST と UNC13A の mRNA 発現量を定量した。さらにタンパク質レベルについてもウェスタンブロット解析により同様の変化の有無を評価した。現在、特にタンパク質レベルでの検証を詳細に行なっている。

(3-2) 波及効果と発展性など

ALS は代表的な加齢性難病であると言えるが、有効な根本的治療法は未だ確立されていない。その病態から①身体的問題、②経済的問題・介護者の負担などの社会的問題、③病状への不安や自分自身の存在の意味を問う精神的問題も存在し、そのケアにおいては栄養管理、呼吸管理、コミュニケーション手段の確保、精神的ケア、介護者への支援など、患者以外への社会的な負担が生じてしまうのが現状である。様々な ALS-RBP がいずれも DCTN1 のスプライシングの制御を介して ALS の発症に寄与していることが明らかとなれば、複数の ALS-RBP が関わる病的メカニズムに対して共通の治療標的を同定することが期待され、ALS の治療法開発の新しいアプローチを提示でき、ALS を取り巻く様々な問題を解決することができると考えられる。

[4] 成果資料

1. ALS-associated RNA-binding proteins promote UNC13A transcription through REST downregulation. Watanabe Y, Suzuki N, Nakagawa T, Hosogane M, Akiyama T, Kageyama N, Funayama Y, Warita H, Morimoto S, Okano H, Aoki M, Nakayama K. EMBO J. 44(17):4745-4771.