

## TMEM106B による前頭側頭葉変性症発症メカニズムの解析

鈴木宏昌

東京医科大学医学部医学科 薬理学分野

### 【研究の背景】

前頭側頭葉変性症 (Frontotemporal lobar degeneration, FTLD) は、前頭葉および側頭葉に局限した神経変性が認められ、現在 65 歳未満の認知症疾患においては、アルツハイマー病に次いで二番目に多い疾患となっている。主に、人格変化・行動異常・言語障害などをきたす<sup>1,2)</sup>。

FTLD は、細胞内に形成する凝集体の構成成分により、TDP-43 (TAR DNA-binding protein-43kDa) が蓄積する FTLD-TDP など、いくつかのタイプに分類される。欧米においては、25~50% が家族性に発症するとされ、現在複数の家族性 FTLD 原因遺伝子が同定されている<sup>3)</sup>。TMEM106B (Transmembrane protein 106B) は、FTLD の中でも、FTLD-TDP の発症率を増加させる因子として同定された<sup>4,5,6,7)</sup>。

TMEM106B は主にリソソームに局在する II 型膜タンパク質であるが、その生理機能は十分解明されていない。TMEM106B 遺伝子の非翻訳領域に 3 つの SNP が報告され、そのうち Risk allele を有する人では、FTLD-TDP の発症率を 1.6 倍増加することが報告されている<sup>4,5,6,7)</sup>。しかし、Risk allele がどのようなメカニズムにより FTLD-TDP の発症率を増加させるのかは十分解明されていない。

### 【目 的】

TMEM106B 遺伝子に Risk allele を有する人では、TMEM106B mRNA の発現が上昇していることが報告されている。さらに、FTLD-TDP 全体においても TMEM106B mRNA の発現が上昇していることが明らかになっている<sup>4,6,8,9)</sup>。このことは、Risk allele または他の因子により TMEM106B の発現が上昇することで FTLD-TDP が発症しうることを示唆している。

そこで本研究では、TMEM106B の発現上昇が神経細胞に与える影響を検討した。具体的には、TMEM106B の高発現が神経細胞死を誘導するのか、また、FTLD-TDP の病理学的特徴である TDP-43 pathology を示すのか検討した。

### 【方 法】

TMEM106B を発現する組換えアデノウイルスベクターを構築し、神経細胞を含む各種細胞に感染させ、TMEM106B を高発現させた。その後、細胞死あるいは細胞生存を LDH アッセイ・WST-8 アッセイにより評価した。また、TMEM106B 誘導体・阻害剤・ストレス誘導剤などを用い、TMEM106B による細胞死メカニズムを解析した。TDP-43 pathology は、断片化 TDP-43 の検出により評価した。

### 【結 果】

TMEM106B を組換えアデノウイルスベクターにより HeLa 細胞・運動神経細胞株 NSC-34 細胞・神経細胞株 Neuro-2a 細胞に高発現させ、LDH アッセイを行った結果、いずれの細胞においても TMEM106B の高発現により細胞死が誘導された。また、初代培養大脳皮質神経細胞を用いて WST-8 アッセイを行った結果、TMEM106B の高発現によりその細胞生存が低下した。さらに、酵母を用いた Yeast growth retardation アッセイにおいても TMEM106B の発現は酵母の増殖を抑制した。以上の結果より、TMEM106B の発現上昇は、*in vitro*・*in vivo* の両者において細胞毒性を示すことが明らかになった。

次に、TMEM106B による細胞死がアポトーシスであるかを検討するため、アポトーシス抑制分子である Bcl-xL を

TMEM106B とともに発現させた。その結果、Bcl-xL は TMEM106B 誘導性細胞死をほぼ完全に抑制した。このことから、TMEM106B 誘導性細胞死には、少なくともアポトーシス経路が含まれることが明らかになった。TMEM106B は主にリソソームに局在するが、リソソーム局在がその細胞死誘導に重要であるか検討するため、リソソームから小胞体に局在がシフトする TMEM106B 誘導体(TMEM106B-Y125D)を用い、その細胞死誘導能を検討した。その結果、野生型に比べその細胞死誘導能は低下した。この結果から、TMEM106B の細胞死誘導には、リソソームへの局在が重要であることが明らかになった。

TMEM106B の Risk allele を有する人はすべてが FTLD-TDP を発症するわけではない。このことは、TMEM106B の発現上昇に加え、何らかのストレスが加わって初めて細胞死を誘導する可能性が示唆される。そこで、神経変性疾患の病態に密接な関与が指摘されている酸化ストレスが<sup>10)</sup>、TMEM106B 誘導性細胞死を増強するのか検討した。細胞死を誘導しない発現レベルで TMEM106B を高発現させ、過酸化水素により酸化ストレスを処理した結果、相乗的な細胞死誘導が観察された。以上より、酸化ストレスは TMEM106B 誘導性細胞死を増強させることが明らかになった。

最後に、TMEM106B の高発現が、TDP-43 pathology を示すか検討した。その結果、TMEM106B の高発現は、全長 TDP-43 の発現を低下させ、断片化 TDP-43 である C-terminal fragment-35kDa (CTF35) の産生を増加させた。これは Caspase 阻害剤により抑制された。以上より、TMEM106B は Caspase を活性化させ TDP-43 の断片化を促進することが明らかになった。

## 【考 察】

以上の結果から、Risk allele または他の因子により TMEM106B の発現が上昇し、リソソーム局在依存性のアポトーシスが誘導され、また TDP-43 pathology が発現し、FTLD-TDP の発症に至ることが示唆された。また、酸化ストレスなどのストレスが TMEM106B による細胞死を増強させ、FTLD-TDP の発症リスクを増加させることが考えられた。

今後は、TMEM106B による神経細胞死の詳細なメカニズム解析を行うことに加え、TMEM106B の発現上昇メカニズム、選択的神経細胞死のメカニズムを解析し、将来的に創薬標的の同定につながる基礎研究を展開していきたい。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

FTLD-TDP は患者により様々な症状を呈することから、TDP-43 単独の異常のみならず、TDP-43 の機能異常またはそれに基づく神経細胞死を修飾する何らかの因子が存在し、複合的なメカニズムにより FTLD の発症に至ることが推測される。本研究の成果により、FTLD-TDP のリスクファクターである TMEM106B による細胞死誘導メカニズムの一端が解明された。今後のさらなる基礎的な研究により、FTLD の理解を深めるとともに、創薬標的の同定につながることを期待され、未だ病態メカニズムが明らかでなく、根本的治療薬が存在しない FTLD の治療薬開発に結びつく可能性があると考えられる。

## 【参考・引用文献】

1. Rademakers R, *et al.*, Nat Rev Neurol, 8, 423-434, 2012
2. Sieben A, *et al.*, Acta Neuropathol, 124, 353-372, 2012
3. Pottier C, *et al.*, J Neurochem, 138, 32-53, 2016
4. VanDeerlin VM, *et al.*, Nat Genet, 42, 234-239, 2010
5. Cruchaga C, *et al.*, Arch Neurol, 68, 581-586, 2011
6. Finch N, *et al.*, Neurology, 76, 467-474, 2011
7. van der Zee J, *et al.*, Brain, 134, 808-815, 2011
8. Chen-Plotkin AS, *et al.*, J Neurosci, 32, 11213-11227, 2012
9. Götzl JK, *et al.*, Acta Neuropathol, 127, 845-860, 2014
10. Uttara B, *et al.*, Curr Neuropharmacol, 7, 65-74, 2009