

C9orf72 遺伝子のリピート異常による前頭側頭型認知症の研究

森英一朗

奈良県立医科大学医学部 未来基礎医学

【研究の背景】

C9orf72 遺伝子のリピート異常によって、前頭側頭型認知症および筋萎縮性側索硬化症を引き起こす。この遺伝子異常によって、ポリジペプチドが産生され細胞毒性を生じる。ここ数年、細胞内の膜に囲まれないオルガネラ (non-membrane bound organelles) の形成機能異常が様々な蛋白質凝集性疾患との関連性が示唆されている。また、膜に囲まれないオルガネラの形成機序が液-液相分離 (liquid-liquid phase separation: LLPS) といった現象と密接に関係していることから、非常に注目されている。これまでの研究から、毒性ポリペプチドの標的が低複雑性 (low-complexity: LC) 配列の蛋白質であり、結合することでポリマー (cross- β polymer) 状態を安定化させることによって病態を発症させることを示してきた^{1,2)}。

【目 的】

これまでの研究で一部の分子機構の解明は進んできたが、他の分子標的に対する機能阻害に関しては、不明な点が残されていた。そこで、毒性ポリペプチドによる相分離抑制シャペロンへに対する影響について検証することを目的とした。

【方 法】

液-液相分離研究のモデル分子として FUS (全長) を用いて、液滴形成および相分離抑制シャペロンによる液滴溶解を濁度計測により評価した。hnRNPA2 の LC ドメインによるヒドロゲル結合法を用いてポリマー形成能を評価した。等温滴定型カロリメトリー (isothermal titration calorimetry: ITC) 法を用いて、分子間の結合を評価した。さらには、同位体でラベルした相分離シャペロンを用いて、溶液核磁気共鳴 (nuclear magnetic resonance: NMR) 法により結合部位を評価した。

【結 果】

毒性ポリペプチドによって、相分離抑制シャペロンによる FUS 液滴溶解が抑制された。また、相分離抑制シャペロンによってポリマー形成が抑制され、毒性ポリペプチドによって相分離抑制シャペロンによるポリマー形成抑制能が阻害された。さらに、毒性ポリペプチドが相分離抑制シャペロンに結合していることが明らかになった。NMR 法により相分離抑制シャペロンの毒性ポリペプチドと相互作用する領域が明らかになった。

【考 察】

これまで、C9orf72 遺伝子のリピート異常によって生じる毒性ポリペプチドがどのように細胞毒性を生じさせているのかについては、様々なモデルが提唱されてきた。今回、LC ドメインによって形成されるポリマーの安定化のみならず、相分離抑制シャペロンに直接相互作用することで、相分離の制御破綻をきたしていることが明らかになった。今後は、さらに、結合領域や様式の詳細な情報を明らかにすることで、病態発症の分子機序を明らかにすることを目指す。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

C9orf72 遺伝子のリピート異常による前頭側頭型認知症および筋萎縮性側索硬化症を引き起こす本疾患の病態解明を通じて、難治性神経難病である前頭側頭型認知症の病態発症機序の理解につなげていきたい。今後は、治療法・治療薬の開発に繋がる成果へと研究を発展させていきたい。本研究成果は、プレプリントとして公開した³⁾。

【参考・引用文献】

1. Lin Y, **Mori E** (co-first), Kato M, Xiang S, Wu L, Kwon I, McKnight SL. Toxic PR Poly-Dipeptides Encoded by the C9orf72 Repeat Expansion Target LC Domain Polymers. *Cell* 2016; 167(3): 789-802. doi: 10.1016/j.cell.2016.10.003.
2. Shi KY, **Mori E** (co-first), Nizami ZF, Lin Y, Kato M, Xiang S, Wu LC, Ding M, Yu Y, Gall JG, McKnight SL. Toxic PRn poly-dipeptides encoded by the C9orf72 repeat expansion block nuclear import and export. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114(7): E1111-E1117. doi: 10.1073/pnas.1620293114.
3. Nanaura H, Kawamukai H, Fujiwara A, Uehara T, Nakanishi M, Shiota T, Hibino M, Aiba Y, Wiriyasermkul P, Kikuchi S, Nagata R, Matsubayashi M, Nagamori S, Shoji O, Ishimori K, Matsumura H, Sugie K, Saio T, Yoshizawa T, **Mori E** (corresponding). Toxic PR poly-dipeptides encoded by the C9orf72 repeat expansion target Kap β 2 and dysregulate phase separation of low-complexity domains. *bioRxiv* 2019. doi: 10.1101/812099.