

前頭側頭型認知症におけるリピート翻訳の選択性制御機構の解明

森 康治, 後藤志帆, 池田 学

大阪大学 大学院医学系研究科 精神医学

【研究の背景】

FTDは、前頭葉の障害による常同行動、脱抑制的な性格変化、側頭葉の障害による進行性失語などを呈し、特に介護者や社会への負担が大きい認知症である。病理学的には前頭葉および側頭葉を中心に非可逆的な神経変性を生じる。*C9orf72* 遺伝子イントロンのGGGGCC(G4C2)リピート伸長変異では、この繰り返し数が数百回リピート以上にも及び、家族性のFTDやその類縁疾患であるALSが引き起こされる。神経病理学的には高頻度に正体不明の封入体が見られるが、申請者らは、この謎の封入体の正体が、イントロン由来のリピートが予想外に開始コドンの非存在下に翻訳を受けて生じたリピートタンパク質であることを明らかにし、これをDPRと命名した。Repeat associated non-AUG(RAN)翻訳により3つ全ての翻訳フレームで翻訳されるため、G4C2リピートからはpoly-GA(グリシン-アラニン)、poly-GP(グリシン-プロリン)、poly-GR(グリシン-アルギニン)の3種類のDPRが産生される。

【目的】

我々はこれまでRNA結合タンパク質やRNA分解酵素に着目してRAN翻訳のテンプレートとなるリピートRNA蓄積の内因性制御機構を解明してきた。しかし上述したようにRAN翻訳では翻訳フレームごとに異なるDPRが産生され、その毒性の強さも異なるため、RAN翻訳がどの翻訳フレームで生じるかの制御機構を明らかにすることも重要である。本研究では我々が新規に同定した分子に着目し、その作用機構の解明を通じてRAN翻訳の翻訳フレーム制御機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】

本研究ではトランスフェクション法によりHeLa細胞に人工的にGGGGCCリピート配列を発現させた系において、新規分子の発現を増減させた際にDPR発現がどのように変化するかについてウエスタンブロッティングなどによる検証を行った。

【結果】

HeLa細胞系で新規因子のノックダウンはDPRの一つであるPoly-GAの発現量を減少させ、逆に過剰発現ではPoly-GAの発現量を増加させた。さらに新規因子の内因性の活性失活変異体での解析により本因子がこの内因性活性に依存してPoly-GAの発現量を調整していることを明らかにした。本因子がPoly-GA以外のDPRの発現量についても調整しているのかについて現在検証を続けている。またHeLa細胞系のみならず*C9orf72*変異患者iPS細胞由来の神経細胞について本因子のノックダウンを実施し、DPR定量を試みていく。結果の一部については日本神経化学会(沖縄)や日本認知症学会(東京)、International society of frontotemporal dementia (ISFTD) 2022(ルール、フランス)等で学会発表を行った。

【考 察】

新規 RAN 翻訳修飾因子の阻害は少なくとも培養細胞系においては DPR タンパク質である poly-GA の発現を抑制した。RAN 翻訳阻害による C9orf72-FTD/ALS の新たな治療法開発の観点から、他の DPR への影響や iPS 細胞由来神経細胞での解析等を通じて本因子を RAN 翻訳阻害薬の標的とすることの妥当性についてさらに検討していく必要がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

RAN 翻訳のメカニズムとその適切な制御方法を明らかにし、C9orf72-FTD/ALS を始めとしたリピート伸長変異による神経変性疾患の治療法開発に繋げていきたい。

【参考・引用文献】

1. Mori K, Gotoh S, Uozumi R, Miyamoto T, Akamine S, Kawabe Y, Tagami S, Ikeda M RNA dysmetabolism and repeat associated non-AUG translation in Frontotemporal Lobar Degeneration/Amyotrophic Lateral Sclerosis due to C9orf72 hexanucleotide repeat expansion *JMA Journal* (in press)
2. Mori K, Ikeda M Biological basis and psychiatric symptoms in frontotemporal dementia *Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 76, 351-360, 2022
3. Marutani N, Akamine S, Kanayama D, Gotoh S, Yanagida K, Maruyama R, Mori K, Miyamoto T, Adachi H, Sakagami Y, Yoshiyama K, Hotta M, Nagase A, Kozawa J, Maeda N, Otsuki M, Matsuoka T, Iwahashi H, Shimomura I, Murayama N, Watanabe H, Ikeda M, Mizuta I, Kudo T. Plasma NfL is associated with early cognitive dysfunction in patients with diabetes. *Psychogeriatrics* published online 13 March 2022
4. Fujino Y, Ueyama M, Ishiguro T, Ozawa D, Sugiki T, Ito H, Murata A, Ishiguro A, Gendron TF, Mori K, Tokuda E, Taminato T, Konno T, Koyama A, Kawabe Y, Takeuchi T, Furukawa Y, Fujiwara T, Ikeda M, Mizuno T, Mochizuki H, Mizusawa H, Wada K, Ishikawa K, Onodera O, Nakatani K, Taguchi H, Petrucelli L, Nagai Y. FUS regulates RAN translation through modulating the G-quadruplex structure of GGGGCC repeat RNA in C9orf72-linked ALS/FTD *BioRxiv* Posted November 01, 2022. (Preprint)
5. 森康治 C9orf72 リピート伸長変異に伴う前頭側頭葉変性症-分子病態解明から治療法開発への展望 *Dementia Japan* 36: 473-485, 2022
6. Mori K, Gotoh S, Uozumi R, Miyamoto T, Kondo S, Yamashita T, Kawabe Y, Akamine S, Nagai Y, Ikeda M siRNA-knockdown screening for potential RAN translation modulators in cellular models of C9orf72 FTLN/ALS *International Society for Frontotemporal Dementias (ISFTD)2022*, 2-5th Nov, 2022, Paris & Lille, France
7. Gotoh S, Mori K, Miyamoto T, Uozumi R, Yamashita T, Kawabe Y, Akamine S, Omi T, Kondo S, Nagai Y, Ikeda M Functional analysis of a potential RAN translation regulator in C9orf72 FTLN/ALS *International Society for Frontotemporal Dementias (ISFTD)2022*, 2-5th Nov, 2022, Paris & Lille, France
8. 森康治 日本認知症学会 学会賞受賞講演 C9orf72リピート伸長による前頭側頭葉変性症の分子病態 **第41回日本認知症学会/第37回日本老年精神医学会** 合同開催, 2022.11.25-27, 東京
9. 後藤志帆 森康治 宮本哲愼 魚住亮太 山下智子 赤嶺祥真 近江翼 近藤志都子 河邊有哉 永井義隆 池田学 C9orf72 FTLN/ALS 関連 RAN 翻訳修飾因子の機能解析 **第 41 回日本認知症学会/第 37 回日本老年精神医学会** 合同開催, 2022.11.25-27, 東京
10. Gotoh S, Mori K, Yamashita T, Uozumi R, Miyamoto T, Kondo S, Omi T, Kawabe Y, Nagai Y, Ikeda M FTLN/ALS 関連 C9orf72 遺伝子異常伸長リピートにおける RAN 翻訳の調整メカニズム **第45回日本神経科学大会/第65回日本神経化学会大会/第32回日本神経回路学会大会** 2022.6.30-7.3 沖縄