

## TDP-43 時代の ALS 病態研究の最前線

小野寺 理<sup>1)</sup>

要旨： TDP-43 病態において、その蛋白特性と量の制御機構が重要である、蛋白特性としては易凝集性、プリオン様ドメインの存在が特徴である。また疾患関連変異型 TDP-43 でも安定性の増加や易凝集性の亢進が報告されたが、必ずしも一定しない。一方、量については、TDP-43 の量の異常が細胞障害性を示し、その量は自己調節機構により厳密に管理されていることが明らかとなった。TDP-43 の機能は、ストレス顆粒との関連、RNA への直接作用、GEM 小体との関連とそれによる U12 型のスプライシング異常が唱えられている。これらの機能異常のいずれが真に ALS の病態に関与しているか解明が待たれる。

(臨床神経 2013;53:1077-1079)

Key words：筋萎縮性側索硬化症、TDP-43、プリオン、量調節機構、GEM

## 序論

TAR-DNA binding protein 43 kDa (TDP-43) の発見以降、Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) の研究は TDP-43 を中心として大きく変化した。現在までに TDP-43 に関し、多くの事が解明されてきた。本稿では、TDP-43 が関係する ALS 病態についての知見について、その凝集体形成の機構と TDP-43 の機能について、概説したい。

## 凝集体はどのように形成されるか

ALS の病理学的特徴の一つは細胞質内の TDP-43 陽性封入体の形成である。この細胞質内の TDP-43 は、リン酸化、ユビキチン化、断片化を受けている。これらの修飾のうち、リン酸化はより早期におこり、大きな凝集体の形成や TDP-43 の核外への移行と同時にみとめられる<sup>1)</sup>。しかし、凝集体の形成にリン酸化が寄与しているかについては明らかではない。むしろ、これらの修飾は、凝集体形成の後におこる二次的な物とする考え方もある<sup>1)2)</sup>。現在まで、なぜ、ALS にて凝集体が形成されるか明快な説明はない。

凝集体形成を考える上で、重要かつ、まちがいないことは、TDP-43 蛋白自身が易凝集性を持つ事である。とくに TDP-43 の C 末は易凝集性を示す<sup>1)2)</sup>。C 末の構造は、それ自身では特定の構造を取らない“天然変性蛋白領域”と考えられ、この事実を指示する<sup>2)</sup>。さらに、同領域は、構造上プリオン様ドメインを持つとも推定されている<sup>3)</sup>。プリオン様ドメインは、他の多くの RNA 結合蛋白でもみだされている<sup>3)</sup>。FUS、TDP-43 が同ドメインを持っていたことから、プリオン様ドメインを持つ蛋白が神経変性疾患の候補蛋白として考

えられ、その遺伝子の変異検索が多く神経変性疾患患者で精力的におこなわれた。その結果、その遺伝子産物がプリオン様ドメインをもつ複数の遺伝子で、疾患関連変異が同定された<sup>3)</sup>。興味深い事に、現在まで変異が同定されたプリオン様ドメインをもつ蛋白質は、いずれも RNA との結合ドメインを持ち、ストレス顆粒への局在が示されている<sup>3)</sup>。これらの事実は、神経変性疾患の原因となる蛋白質に、共通した特性があることを示唆している。

一方、ALS10 患者でみいだされた疾患関連変異型 TDP-43 の蛋白特性について、精力的に検討されている。ALS10 関連変異型 TDP-43 の解析は孤発性 ALS の病態解析にも寄与すると考えられ重要である。一部の疾患関連変異型 TDP-43 では蛋白質レベルでの安定性の増加や易凝集性が指摘されている<sup>2)</sup>。しかし、その結果は変異毎でことなり、またその結果も必ずしも一定ではなく、真に疾患関連変異型 TDP-43 の蛋白質レベルでの変化が本症の発症に寄与しているかは明らかではない。また疾患関連変異型 TDP-43 によって野生型より重篤な症状を現したモデルマウスの報告はあるが、強制発現系での解析は、後述する自己発現調節機能への影響や TDP-43 の過剰発現による影響を払拭できず、その解釈は慎重であるべきである<sup>4)</sup>。

一方 TDP-43 のモデル動物での実験で確実に明らかとなったことは次の 2 点である。第 1 点は、野生型 TDP-43 であっても過剰発現系では細胞毒性を示すこと。第 2 点は、TDP-43 欠損ヘテロマウスでは TDP-43 量が保たれていることである<sup>4)</sup>。このことは、TDP-43 の量が細胞維持に重要であることを示している。実際 TDP-43 には、自己の量調節機構がある。ALS の罹患細胞では、核内の TDP-43 が消失していることから、自己調節機構の異常が想定され、その機構の詳細な解明が待たれる<sup>1)</sup>。この機構には、ナンセンス依存性 mRNA

<sup>1)</sup> 新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター分子神経疾患資源解析学 [〒 951-8585 新潟県新潟市中央区旭町通 1 番町 757] (受付日：2013 年 5 月 30 日)

分解機構が関与する説と<sup>5)</sup>, TDP-43 mRNA の細胞質への移動を抑制するとする説があり<sup>6)</sup>, 決着がしていない。

### TDP-43 の機能は何か

TDP-43 や FUS は、ストレス下で細胞質内のストレス顆粒に移動し局在し、翻訳関連蛋白とクラスターを形成している<sup>3)</sup>。ストレス顆粒の機能についてはストレス時の一次的な mRNA の避難場所なのか、それ以外の何らかの細胞機能維持機構を持つのか、明らかではない。そのため、TDP-43 のストレス顆粒への局在の意義については、凝集体形成の Niche とする考えがあるが<sup>3)</sup>, TDP-43 のストレス顆粒での機能の障害や、ストレス顆粒自身の機能障害が、ALS 病態に関与するかは不明である。

一般には TDP-43 は核内で機能するとされる。網羅的な解析により、TDP-43 が結合する、もしくは影響する、多くの RNA が同定された<sup>1)2)</sup>。その結果、結合する塩基配列が判明し、大きな遺伝子や、大きなイントロンに結合することが示された。しかし、これらの結果は、一方で、網羅的解析の限界を示している。つまり、結合モチーフの特異性が強くなければ、長い遺伝子や、イントロンに多く結合することは当然ともいえる。TDP-43 が関与する病態の後期ではこれら広汎な RNA 代謝障害が、ALS の病態に寄与している可能性はあるが、これらの遺伝子群が、病初期に、どの程度かかわっているかは疑念がある。実際、ALS 患者組織で確認された異常遺伝子はきわめて限られている<sup>7)8)</sup>。

一方、最近、ALS にて、核内小体である GEM 小体の減少の報告が続いている<sup>9)10)</sup>。TDP-43 は核内でびまん性に存在するが一部小体を形成する。この小体は他の核内小体と共局在をするが、その一つが GEM である。GEM は脊髄性筋萎縮症の原因蛋白質 SMN が局在する部位で有り、スプライシング関連 RNA、とくにスプライシングの部位を決定する RNA の成熟に関与する。さらに、われわれは、このスプライシング関連 RNA の中で、U12 snRNA の減少をみいだした<sup>9)</sup>。これらの変化は脊髄性筋萎縮症と共通点があり、特定のスプライシング関連 RNA の異常が、運動神経細胞死に共通した病態であるのか、今後の検討が期待される

### 結 語

TDP-43 の発見は、本症の病態解明を革新的に進歩させている。この数年の進歩は、本症の病態機序の解明と、それに基づく治療方法の開発が、決して夢ではないことを期待させる。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

### 文 献

- 1) Lee EB, Lee VMY, Trojanowski JQ. Gains or losses: molecular mechanisms of TDP43-mediated neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci* 2012;13:38-50.
- 2) Onodera O, Sugai A, Konno T, et al. What is the key player in TDP-43 pathology in ALS: Disappearance from the nucleus or inclusion formation in the cytoplasm? *Neurol Clin Neurosci* 2013;1:11-17.
- 3) Li YR, King OD, Shorter J, et al. Stress granules as crucibles of ALS pathogenesis. *J Cell Biol* 2013;201:361-372.
- 4) Tsao W, Jeong YH, Lin S, et al. Rodent models of TDP-43: recent advances. *Brain Res* 2012;1462:26-39.
- 5) Polymenidou M, Lagier-Tourenne C, Hutt KR, et al. Long pre-mRNA depletion and RNA missplicing contribute to neuronal vulnerability from loss of TDP-43. *Nat Neurosci* 2011;14:459-468.
- 6) Avendaño-Vázquez SE, Dhir A, Bembich S, et al. Autoregulation of TDP-43 mRNA levels involves interplay between transcription, splicing, and alternative polyA site selection. *Genes Dev* 2012;26:1679-1684.
- 7) Lagier-Tourenne C, Polymenidou M, Hutt KR, et al. Divergent roles of ALS-linked proteins FUS/TLS and TDP-43 intersect in processing long pre-mRNAs. *Nat Neurosci* 2012;15:1488-1497.
- 8) Shiga A, Ishihara T, Miyashita A, et al. Alteration of POLDIP3 splicing associated with loss of function of TDP-43 in tissues affected with ALS. *PLoS ONE* 2012;7:e43120.
- 9) Ishihara T, Ariizumi Y, Shiga A, et al. Decreased number of Gemini of coiled bodies and U12 snRNA level in amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet* 2013; Advance online publication. doi: 10.1093/hmg/ddt262.
- 10) Tsujii H, Iguchi Y, Furuya A, et al. Spliceosome integrity is defective in the motor neuron diseases ALS and SMA. *EMBO Mol Med* 2013;5:221-234.

**Abstract****Molecular pathogenesis of ALS in TDP43 era**Osamu Onodera, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Department of Molecular Neuroscience, Resource Branch for Brain Disease, Brain Research Institute, Niigata University

To clarify the molecular pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) associated with TAR-DNA binding protein 43 kDd (TDP-43), the quality and quantity of TDP-43 take a crucial role. Regarding to the quality of TDP-43, TDP-43 has been reported as an aggregate-prone protein. Especially the C-terminus of the TDP-43 tends to form aggregate and has prion-like domain. Interestingly the mutations in the genes, which produce proteins with prion-like domain, have been identified in several neurodegenerative disorders. These results suggest the existence of the common property in the causative proteins for neurodegenerative disorders. For the quantity of TDP-43, the adequate amount of TDP-43 is necessary for maintaining cell function and cell survival. The amount of TDP-43 is tightly regulated by TDP-43. However the mechanism for autoregulation has not been fully elucidated. For the function of TDP-43, TDP-43 locates at stress granule, GEM and associates with the large genes and introns. Thus the alteration of TDP-43 may affect the function of stress granule, GEM and RNA metabolism in several genes. Moreover a U12 type spliceosome, which is matured in GEM, is decreased in ALS. The investigation of whether these dysfunctions explain the selective pathology in ALS provides a new therapeutic strategy for ALS.

(Clin Neurol 2013;53:1077-1079)

**Key words:** amyotrophic lateral sclerosis, TDP-43, prion, autoregulation, GEM

---