

氏 名	シモナカ ショウタロウ 下中 翔 太郎
所 属	理工学研究科 生命科学専攻
学 位 の 種 類	博士（理学）
学 位 記 番 号	理工博 第 197 号
学位授与の日付	平成 28 年 3 月 25 日
課程・論文の別	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題名	TDP-43 凝集機構に関する研究 （英文）
論文審査委員	主査 教 授 久永 眞市 委員 教 授 川原 裕之 委員 准教授 安藤 香奈絵 委員 連携客員教授 長谷川 成人

### 【論文の内容の要旨】

前頭側頭葉変性症 (FTLD)、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) などの神経変性疾患において、病変部位の神経細胞内に見られるユビキチン陽性封入体の主成分として、核蛋白である TAR DNA binding protein of 43kDa (TDP-43) が同定された。続いて、孤発性・家族性 ALS の患者に、TDP-43 をコードする *TARDBP* 遺伝子にミスセンス変異が多数発見され、TDP-43 の異常と FTLD、ALS の発症との関係が遺伝学的にも示された。患者脳に蓄積する TDP-43 は、線維化、凝集している他、リン酸化やユビキチン化などの翻訳後修飾を受けている。また、全長分子に加えて 18-26kDa の C 末側断片が蓄積し、そのバンドパターンが疾患や病理型で異なることが示されている。TDP-43 の C 末側領域は、プリオン蛋白との相同性が高いこと、家族性・孤発性 ALS 患者に見いだされたミスセンス変異が集中していること、さらには、TDP-43 の C 末側断片 (162-414) を緑色蛍光蛋白 (GFP) の融合蛋白として SH-SY5Y 細胞に発現させると凝集体を形成することから、凝集体形成や病態の発現において重要な役割を果たすことが示唆されている。

本研究では TDP-43 の凝集メカニズムを明らかにするため、TDP-43 の C 末側断片の凝集に寄与する配列を同定し、その性質を解析することを試みた。GFP を N 末端に付加した TDP-43 の C 末側断片 (162-414) に部分欠損を導入し、SH-SY5Y に一過性に発現させて凝集体形成を定量した。その結果、glycine-rich domain 内の配列 274-313 を同定した。その後、該当する配列とその周辺のアミノ酸配列のペプチドを合成し、その性質を調べたところ、274-313 と 314-353 の配列が強い凝集能を示し、アミロイド様の線維構造を形成し得ることが明ら

かになった。さらにこれらの合成ペプチドから形成された線維を培養細胞に導入する実験を行った結果、細胞内に発現した TDP-43 がリン酸化されて凝集することを見出した。不溶化した TDP-43 を調べたところ、導入したペプチド線維の違いにより、蓄積する C 末断片が異なることが示された。以上の結果は、異なる配列であっても、線維化 TDP-43 は凝集核として働き、細胞内の TDP-43 を異常型に変換して凝集体を形成することを強く示唆する。

本研究では、TDP-43 の C 末端領域の凝集に関わる配列として 274-353 を同定した。この配列を中心に近傍の配列の関与の仕方により、構造の異なる TDP-43 の凝集核が形成され、病型の異なる疾患の発症に繋がる可能性が考えられる。この研究で得られた知見は、TDP-43 の蓄積メカニズムの解明に貢献すると共に、新規の TDP-43 凝集モデルの構築や ALS、FTLD の治療薬開発に役立つことが期待される。