

**【目的】** ALS（筋萎縮性側索硬化症）は、運動ニューロンが選択的に侵される神経難病で、約90%は発症原因が不明な孤発性である一方、約10%は遺伝子変異が関連する家族性であり、これまでに約20の原因遺伝子が見出されている。その一つとして、*OPTN* 遺伝子が重要な病因因子であることが、2010年に日本のグループから報告されている。以前、筆者らのグループでは、ユビキチンのN末端を介した特殊な連結様式により形成される「直鎖状ユビキチン鎖」が、炎症や免疫に重要なNF-κBシグナルを制御し、慢性皮膚炎やB細胞リンパ腫などを含む各種免疫疾患と非常に密接に関連する事を世界に先駆けて報告してきた。また、*OPTN* (optineurin) はユビキチン結合タンパク質としても知られることから、今回、*OPTN* 変異を伴うALS発症に対する直鎖状ユビキチン鎖の寄与について研究を進めた。

**【方法】** まず、*OPTN* とALSとの関連性、特に*OPTN* が備える生理機能を解明する目的で、野生型及び12種の疾患関連*OPTN* 変異体を作製し、LUBACによるNF-κB活性化への影響を調べた。また、CRISPR/Cas9法を用いて*OPTN* ノックアウトHeLa細胞を作製し、NF-κB活性化を解析すると共に、*OPTN* と直鎖状ユビキチンの結合を結晶構造解析により評価した。さらに、*OPTN* 変異を伴うALS患者由来の組織標本染色を行った。

**【結果】** *OPTN* 変異体を用いたLuc assayにおいて、野生型および全ての緑内障を引き起こす*OPTN* 変異体は強くNF-κB活性化を抑制したが、ほとんどのALS関連*OPTN* 変異体ではNF-κB活性阻害能を失ったことから、*OPTN* によるNF-κB活性阻害にはUBANドメインが重要性であることが示された。また、共結晶構造解析により、2分子の*OPTN*-UBANの両側に直鎖状ユビキチンが結合していることが明らかになった。さらに、*OPTN* ノックアウトHeLa細胞の解析においては、*OPTN* 欠損によってNF-κB活性化が亢進し、TNF-αとシクロヘキシミドによって惹起されるアポトーシスも亢進した。重要なことに、*OPTN* のQ398XやE478G変異によるALS患者由来の組織標本染色から、これら患者の運動ニューロンでは直鎖状ユビキチンや活性化型NF-κB因子が細胞質にTDP-43と共局在する凝集体に共局在していること、そのような細胞ではカスパーゼ3が活性化していることを見いだした。これらの結果から、*OPTN* は正常細胞ではNF-κBと細胞死を抑制しているが、ALSを引き起こす変異体発現下ではNF-κB活性やアポトーシスが亢進し、最終的にALSに至る可能性が示され、直鎖状ユビキチン鎖がALSの新たな治療ターゲットになる可能性が示唆された。

OPTNによる直鎖状ユビキチン鎖を介した細胞生死シグナル制御とALSへの関与

