

【目的】筋萎縮性側索硬化症（ALS）や前頭側頭葉変性症などの複数の神経変性疾患で、複数の RNA 結合タンパク質の細胞質での凝集が病理的所見として報告されている。これは疾患発症に深く関わることを示唆されているが、その機構については未解明な部分が多い。我々はこれまでに、そのような凝集タンパク質に注目して研究を行ってきた。そして、異なる RNA 結合タンパク質を中核とする凝集体が、共通して特定の RNA の細胞内局在を攪乱すること、また凝集体形成により異所的な翻訳活性化が起こることを見出している。これらの事実は、凝集体形成による RNA 動態の変容が神経変性疾患の病態形成の要因となることを示唆している。本研究はこれを発展させ、ALS 関連凝集体の一つである FUS タンパク質凝集体を対象とし、その形成下で RNA 動態を変化させる因子の探索とその機能解析を通して、RNA 動態変化メカニズムの解明を目指した。将来的な目標は、凝集体形成による神経変性疾患発症機構の理解である。

【方法】本研究ではまず光反応性 Halo タグ基質を用いて、野生型と変異により凝集体形成が促進された FUS タンパク質で、相互作用が変化する因子の探索を行った。この基質は光刺激により近傍分子に化学架橋を施すものであり、これと質量分析を組み合わせることで、標的分子とその近傍分子の相互作用探索が可能となる。次に、上記実験で相互作用変化の見られたタンパク質の一つである VCP タンパク質を対象とした解析を行った。具体的には、FUS 凝集体の性質と VCP 発現レベルの関係性の解析や、局在 RNA のライブイメージング、および細胞内の翻訳活性の可視化を用いた RNA 動態の解析を行った。上記実験は、これまでに我々が、当該分野の研究で使用しており、かつ神経細胞と類似した RNA 局在を示す NIH/3T3 細胞を用いて遂行した。

【結果】光反応性 Halo タグ基質と質量分析を用いた解析の結果、FUS タンパク質変異の有無に際して FUS との相互作用が変化するいくつかのタンパク質の同定に成功した。その一つであり、ALS 原因遺伝子としても報告されている VCP タンパク質は、ALS 関連変異により凝集体形成する FUS タンパク質とは相互作用が減少していた。そして興味深いことに、VCP の過剰発現により、FUS 凝集体形成によって引き起こされる異所的な翻訳活性化や RNA 局在の異常が緩和されることを示唆する結果が得られた。このことは、VCP は本来、上記のような RNA 動態に何らかの形で関わる制御機構（の一部）であり、FUS 変異による相互作用の減少がその制御を逸脱する一因になっている可能性を示唆している。また、VCP はプロテアソーム経路での活性が報告されているが、上記の結果はプロテアソーム経路とは別に、VCP が根本に持つ ATP 分解酵素としての側面が非常に重要であることも明らかとなった。これまで VCP は、プロテアソーム経路に着目して、ALS との関わりが議論されてきた。本研究結果はそれら先行研究とはまた別の、新たな病態形成経路の解明につながる結果である。

本研究の経緯と目的の概略図

