

22 光遺伝学TDP-43を用いたALS病態の理解と制御	浅川 和秀
------------------------------	-------

【目的】筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、脳からの運動指令を筋肉に伝達する神経細胞「運動ニューロン」が変性によって失われ、全身の筋力が致死的に衰退する難病である。ALS 全体の 90%以上を占める遺伝子変異に連鎖しないタイプの ALS (孤発性 ALS) には、変性運動ニューロンの細胞質に凝集した TDP-43 タンパク質が蓄積する、という特徴がある。本研究に先立って、我々は、青色光を吸収するとクラスター化する CRY2olig タンパク質を TDP-43 に融合した光遺伝学型 TDP-43 (opTDP-43h) を開発した。opTDP-43 を熱帯魚ゼブラフィッシュ仔魚の運動ニューロンに発現させ、仔魚に青色光を照射すると、細胞核に豊富に局在していた opTDP-43h が、次第に細胞質へと移行し、凝集体を形成することを見出した。我々は、この光照射による opTDP-43h の凝集が、ヒトや既存の ALS 動物モデルでは研究が困難とされてきた、変性初期の運動ニューロンの状態を再現している可能性があると考えた。本研究では、光刺激によって opTDP-43h の細胞内局在が、細胞核から細胞質への移行する現象において、TDP-43 の RNA への結合が果たす役割を検証することで、初期の運動ニューロン変性のメカニズムを明らかにしようと試みた。

【方法】2つの RNA 結合ドメイン (RRM1 と RRM2) を欠失させた opTDP-43h (opTDP-43hdRRM12) を脊髄運動ニューロンに発現するトランスジェニックゼブラフィッシュ Tg[mnr2b-hs:opTDP-43hdRRM12] を構築した。Tg[mnr2b-hs:opTDP-43hdRRM12]仔魚に青色光を照射し、opTDP-43hdRRM12 の細胞内局在の変化をリアルタイムで観察した。

【結果】青色光を照射する前の Tg[mnr2b-hs:opTDP-43hdRRM12]仔魚においては、opTDP-43hdRRM12 は細胞核に局在した。opTDP-43h は、青色光を 24 時間照射すると細胞質に移行して凝集するが、opTDP-43hdRRM12 は、青色光の照射後も細胞核への局在を維持した。この結果は、opTDP-43h の細胞質への移行には、RNA 結合ドメインが必須であることを示していた。青色光の照射によってクラスター化した opTDP-43h は、RNA と結合して細胞質に移行する可能性が示唆された。また、内在性の TDP-43 遺伝子が破壊された Tg[mnr2b-hs:opTDP-43hdRRM12]仔魚においては、青色光照射の有無にかかわらず、opTDP-43hdRRM12 が細胞体や神経軸索の接続部に大きな顆粒構造を形成した。この結果から、細胞核に豊富に局在するという典型的な TDP-43 の細胞内分布パターンには、RNA への結合が必須である可能性が示唆された。

光照射による TDP-43 凝集

