

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 櫛村由紀恵

主論文 1編

Overexpression of *ter94*, *Drosophila VCP*, improves motor neuron degeneration induced by knockdown of *TBPH*, *Drosophila TDP-43*

American Journal of Neurodegenerative Disease 7;11-31, 2018

審査結果の要旨

筋萎縮性側索硬化症 (以下 ALS) は根本的治療薬のない進行性の運動神経変性疾患であり、病態的特徴として、通常は核に多く存在する TAR DNA-binding protein 43 (以下 TDP-43) が細胞質に異常凝集することが知られている。先行研究では、TDP-43 のショウジョウバエホモログである *TBPH* をノックダウン (以下 KD) するとショウジョウバエの運動機能低下や運動神経変性が核の機能喪失によって引き起こされることが報告されている。申請者は、TDP-43 に関連した ALS の病態への VCP の影響を調べることを目的として、ショウジョウバエを用いて *TBPH* と *ter94* の遺伝的相互作用を研究した。

複眼原基特異的に *TBPH-KD* ショウジョウバエを作成し、この表現型を指標として、*ter94* の機能喪失型または過剰発現型ショウジョウバエをそれぞれ交配し、成虫複眼の形態変化を確認した。運動機能の測定を目的として、神経特異的に *TBPH-KD* ショウジョウバエを作成し、運動能力と神経筋接合部 (以下 NMJ) における運動神経の形態を観察、中枢神経 (以下 CNS) における TBPH 蛋白を免疫染色し、*ter94* との遺伝的相互作用を調べた。複眼原基特異的 *TBPH-KD* では個眼融合や剛毛消失などの rough eye 表現型を認め、*TBPH-KD* と *ter94* 欠失変異系統との交配により、rough eye の増強を認めた。また、*TBPH-KD* と *ter94* の過剰発現系統との交配により、rough eye の改善を認めた。また、神経特異的 *TBPH-KD* では運動能力が低下し、神経特異的 *TBPH-KD* に *ter94* 欠失変異系統を交配すると運動能力はさらに低下した。神経特異的 *TBPH-KD* に *ter94* 過剰発現系統を交配すると運動能力が改善した。NMJ の神経枝の長さを測定すると神経特異的 *TBPH-KD* では短縮を認め、神経終末ボタンの数の減少を認めた。*TBPH-KD* と *ter94* 欠失変異系統の交配では、神経枝の長さ、神経終末ボタンの数や大きさは変化しなかった。*TBPH-KD* と *ter94* 過剰発現系統の交配では神経枝の長さ、神経終末ボタンの数が改善した。CNS の免疫染色では、神経特異的 *TBPH-KD* で TBPH 蛋白は低下し、*ter94* 欠失変異系統を交配することでは TBPH 蛋白量は変化せず、*ter94* 過剰発現系統を交配すると TBPH 蛋白量の上昇を認めた。結果をまとめると、*ter94* の過剰発現が *TBPH-KD* ショウジョウバエにおける複眼の変性や運動能力の低下、運動神経終末の長さ、CNS における TBPH 蛋白量を改善することがわかった。TDP-43 (TBPH) の機能は、mRNA の代謝に大きく関わり、核-細胞質間輸送に関わっている。一方、VCP (*ter94*) も核-細胞質間輸送に関わる多機能蛋白である。近年、酵母やマウスの ALS/FTLD モデルで、核-細胞質間輸送の調節が神経変性を減少させると報告されている (Ward ME et al. 2014)。核-細胞質間輸送は ALS/FTLD の治療目標となりうることを考察している文献もある (Moisse K et al. 2009)。申請者の今回の結果はヒトにおける TDP-43 と VCP の関係を反映していると考え、VCP 過剰発現は TDP-43 の核-細胞質間輸送において、TDP-43 を核内へ輸送する方向にシフトさせる可能性を示唆した。これは CNS において TBPH の核内蛋白量が *ter94* 過剰発現によって上昇したことに準拠する。以上が本論文の要旨であるが、VCP の過剰発現が TDP-43 に関連する ALS の神経変性を抑制する可能性を示唆するこの研究は、今後の ALS の病態メカニズムの研究や根本治療薬の探索に貢献するものと考えられ、医学上価値のある研究と認める。

平成 30 年 5 月 17 日

審査委員 教授 伊 東 恭 子 ㊞

審査委員 教授 田 中 雅 樹 ㊞

審査委員 教授 八 木 田 和 弘 ㊞