

## Press Release

報道関係者各位

2023年9月25日  
岡山理科大学

### 核タンパク質 TDP-43 の細胞外放出におけるオートファジーの役割を解明

岡山理科大学・獣医学部・獣医学科・生化学講座の田中良法助教らは、運動ニューロン疾患である筋萎縮性側索硬化症(ALS)や認知症の亜型である前頭側頭葉変性症(FTLD-TDP)の病因タンパク質である TDP-43 の細胞外放出がオートファジーに制御されていることを明らかにしました。

本研究成果は、(公財)東京都医学総合研究所認知症プロジェクトとの共同研究で得られたもので、2023年9月20日に米国科学雑誌『Journal of Biological Chemistry(ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー)』オンライン版に掲載されました。

<論文タイトル>

Dysregulation of the progranulin-driven autophagy-lysosomal pathway mediates secretion of the nuclear protein TDP-43

プログラニューリンによって駆動されるオートファジー・リソソーム経路の調節異常は核タンパク質 TDP-43 の分泌を仲介する

問合わせ先 岡山理科大学

<研究に関すること>

岡山理科大学 獣医学部獣医学科生化学講座 田中 良法 助教

TEL 0898-52-9123 メール y-tanaka@ous.ac.jp

<配信元>

岡山理科大学 企画部 企画広報課(〒700-0005 岡山市北区理大町 1-1)

TEL 086-256-8508 FAX 086-256-8528

※本資料をメールで送付希望の方は企画部企画広報課までご連絡ください。

## 1 研究の背景

筋萎縮性側索硬化症(ALS)\*1 や前頭側頭葉変性症(FTLD-TDP)\*2 の病変部位では、核タンパク質 TDP-43\*3 が核内から消失し、細胞質に凝集・蓄積します。凝集した TDP-43 に細胞毒性があることや核内における TDP-43 の働きが細胞機能維持に不可欠であることなどから、TDP-43 の細胞質内蓄積は ALS や FTLD-TDP の病態形成の一因となると考えられています。

TDP-43 の細胞質内蓄積病理は疾患の進行に伴い、初発部位から他の脳・脊髄部位へと神経回路を介して拡大します。細胞質に凝集・蓄積した異常型の TDP-43 は C 末端領域を線維中心とする線維状構造を維持していますが、この異常型の TDP-43 は正常型の TDP-43 を異常型に変換する性質があります。したがって、異常型の TDP-43 が細胞間で伝播されると、TDP-43 の細胞質内蓄積病理の拡大につながるものが予想されます。細胞培養実験では、細胞外小胞(Extracellular Vesicle; EV)\*4 を介して TDP-43 が細胞間を拡がっていくことが示唆されていました。しかし、どのような仕組みを介して TDP-43 を内包する EV が細胞外に放出されるのか明らかになっていませんでした。

(マクロ)オートファジーは TDP-43 凝集体などの不要な細胞内成分を取り囲んだ小胞であるオートファゴソームが加水分解酵素を貯蔵する小胞であるリソソームと融合し、オートリソソームという小胞を新たに形成することで不要な細胞内成分を分解する機構です。孤発性 ALS ではオートファジー・リソソーム経路の調節異常が示唆されること、家族性 ALS の原因遺伝子のいくつかはオートファジー・リソソーム経路の制御に関与していること、家族性 FTLD-TDP の原因タンパク質であるプログランニューリン(PGRN)\*5 はオートファジー・リソソーム経路を制御していることなどから、オートファジー・リソソーム経路の調節異常が TDP-43 の分解だけでなく、EV を介した細胞外放出にも影響するのではないかと考えました。実際、オートファゴソームは後期エンドソームと融合してアンフィソームを形成し、内容物を細胞外に放出する機構が提唱されています。本研究では、オートファジー・リソソーム経路が EV を介した TDP-43 の細胞外放出に与える影響を調べました。

## 2 研究の概要

オートファジー・リソソーム経路を阻害する Bafilomycin A1(Baf)を培養細胞に添加すると、EV 画分中の TDP-43 の全長及び C 末端断片、オートファゴソームの指標となるタンパク質である LC3-II の含有量が増加しました。Baf が EV を介して TDP-43 や LC3-II の細胞外放出を促進することが示唆されました。オートファジーを促進する薬物 Rapamycin や血清飢餓培養は、EV を介した TDP-43 や LC3-II の細胞外放出を促進しませんでした。Baf の存在下では、Rapamycin や血清飢餓培養は Baf が促進する EV を介した TDP-43 や LC3-II の細胞外放出をさらに増加しました。蛍光タンパク質を付加した TDP-43 の C 末端断片(参考図1)や LC3(参考図2)は、Baf の添加によって細胞膜に局在しました。一方で、C 末端領域を欠損すると、Baf による EV を介した TDP-43 の細胞外放出は抑制されました。また、オートファジー欠損細胞では、Baf が促進する EV を介した TDP-43 の細胞外放出は抑制されました。Baf はオートファジー依存的に EV に取り込まれた TDP-43 の放出を促進することが明らかとなりました。

オートファジー・リソソーム経路を制御する FTLD-TDP の原因タンパク質である PGRN の発現を抑制した場合も、TDP-43 の C 末端断片や LC3-II の細胞外放出が増加しました。PGRN の発現抑制によって生じる TDP-43 の C 末端断片や LC3-II の細胞外放出もオートファジーによって仲介されていました。以上のことから、PGRN が関与するオートファジー・リソソーム経路の破綻によって、EV を介した TDP-43 の細胞外放出が促進することが考えられます(参考図 3)。

### 3 今後の展望

オートファジー・リソソーム経路の抑制によって EV を介した TDP-43 の細胞外放出が促進されることが明らかとなり、オートファジー・リソソーム経路や EV 放出を制御することで TDP-43 の細胞間伝播を抑制できる可能性が示唆されました。一方で、どのように PGRN がオートファジー・リソソーム経路を制御しているのか、どのように TDP-43 が EV に取り込まれるのか、どのような刺激によって TDP-43 を内包する EV が放出されるのかといった点は未解明であり、今後の研究の進展が期待されます。本研究の発展によって、TDP-43 の細胞間伝播を標的とした ALS や FTLD-TDP の新規予防法・治療法の開発につながる可能性があります。



## [用語説明]

\*1 筋萎縮性側索硬化症: 筋肉を動かす神経(運動ニューロン)が徐々に障害され、体を動かすのに必要な筋肉がやせて力がなくなっていく疾患です。根治的な治療法は確立されていません。

\*2 前頭側頭葉変性症: 前頭葉及び側頭葉に局限した萎縮が認められる神経変性疾患で認知症の1つに分類されています。人格変化、行動障害、言語障害を主症状とします。根治的な治療法は確立されていません。

\*3 TDP-43 (TAR DNA-binding protein of 43 kDa): 主に細胞の核に局在するRNA結合タンパク質で、RNAの代謝、輸送及び分解などに関与しています。筋萎縮性側索硬化症及び前頭側頭葉変性症に出現する封入体の主要な構成成分として、2006年に同定されました。

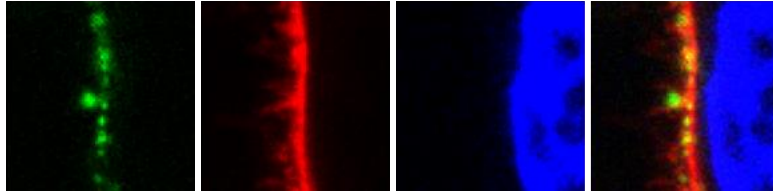
\*4 細胞外小胞: 細胞によって細胞外環境に放出される脂質膜小胞で、様々なタンパク質や核酸を含み、細胞間コミュニケーションを媒介すると言われています。細胞内における産生機構の違いからエクソソームやマイクロベシクル等に分類されています。

\*5 プログラニュリン: 分泌タンパク質で細胞内小器官であるリソソームの働きを制御することが知られています。前頭側頭葉変性症の原因遺伝子として2006年に同定されました。

参考図1

Baf 添加時における蛍光タンパク質を付加した TDP-43 の C 末端断片の細胞膜への局在

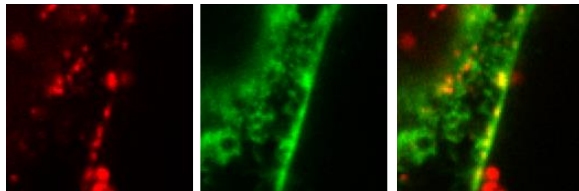
TDP-43  
C末端断片      細胞膜      細胞核      合成像



参考図2

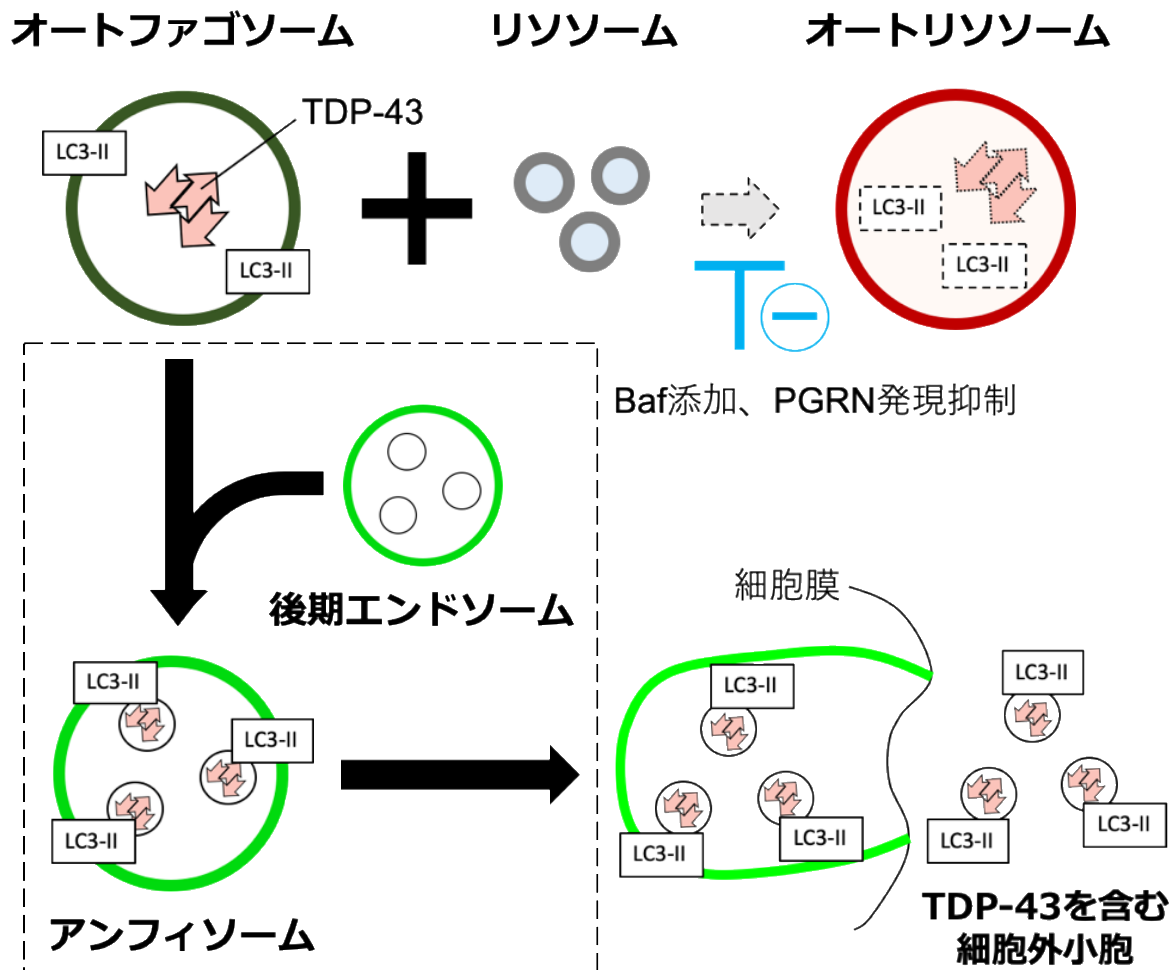
Baf 添加時における蛍光タンパク質を付加した LC3 の細胞膜への局在

LC3      細胞膜      合成像



参考図3

オートファジー・リソソーム経路の阻害によって TDP-43 が細胞外へ放出される機構の模式図



※点線で囲まれた領域は今後の検討領域

Baf の添加や PGRN 発現抑制によってオートファジー・リソソーム経路が抑制されると、細胞内に TDP-43 を内包するオートファゴソームが蓄積し、後期エンドソームや細胞膜との融合を介して TDP-43 を内包する小胞が細胞外へ放出される。