

最新研究の紹介

二つのタンパク質分解経路への指向性を有する細胞内抗体を用いた、筋萎縮性側索硬化症(ALS) 関連蛋白質TDP-43凝集体の除去

論文タイトル

Elimination of TDP-43 inclusions linked to amyotrophic lateral sclerosis by a misfolding-specific intrabody with dual proteolytic signals

掲載誌

Scientific Reports 8:6030 (2018)

[doi:10.1038/s41598-018-24463-3](https://doi.org/10.1038/s41598-018-24463-3)

執筆者

Yoshitaka Tamaki, Akemi Shodai, Toshifumi Morimura, Ryota Hikiami, Sumio Minamiyama, Takashi Ayaki, Ikuko Tooyama, Yoshiaki Furukawa, Ryosuke Takahashi & Makoto Urushitani

概要

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、脳が意図する筋肉の運動を司る運動ニューロンが脳と脊髄で徐々に死滅することにより全身の筋力が低下し、筋萎縮が進行する神経難病です。呼吸に必要な神経も障害されるため、発症後3～5年で自ら呼吸することが困難になり、人工呼吸器による補助が必要となります。長らく原因が不明でしたが、遺伝しない孤発性ALSでは、本来細胞の核の中に存在するRNA結合タンパク質であるTAR DNA-binding protein 43 kDa (TDP-43) が核外の細胞質に異常な局在をした結果形成される凝集体がALSを引き起こすことが発見されました。

私達は、凝集体を形成する「通常とは異なる構造となった異常なTDP-43」を特異的に認識するモノクローナル抗体3B12Aを2012年に開発しました。今回の論文では、3B12Aを使った遺伝子治療薬への応用に向けて、1) 3B12Aと抗原である異常なTDP-43との結合に関係する領域のみを取り出した一本鎖抗体の遺伝子 (3B12A scFv)、2) 異常なTDP-43と結合した3B12Aを細胞が持つタンパク質分解経路の一つであるオートファジーに導くためのシグナル配列 (CMA) を付加した自己分解型細胞内抗体3B12A scFv-CMAの遺伝子を作製し、その機能をヒトの培養細胞やマウスを用いた実験で検証しました。

まず、ヒト腎臓細胞由来のHEK293A細胞にTDP-43 (野生型と3つの異常型 (細胞質型, 核内凝集型, 細胞質凝集型)) と3B12A scFvの遺伝子を導入し、3B12A scFv抗体が異常型の TDP-43 のみを認識することを確認しました(図1)。

つづいて、3B12A scFv-CMAが異常なTDP-43と結合した後、細胞内のタンパク質分解経路によって分解されることを確認しました(図2)。3B12A scFv-CMAはオートファジー分解シグナルに加え、重鎖 (VH) 内にプロテアソームに導くためのシグナル配列を有しており、この細胞内抗体に認識された異常なTDP-43はユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー系の両方で分解されることも明らかになりました(図3)。

今後、ALSモデルマウスやサルなど霊長類を用いた効果確認や安全性評価が進めば、難病であるALSの根治治療の道を開く可能性を示唆する研究成果です。

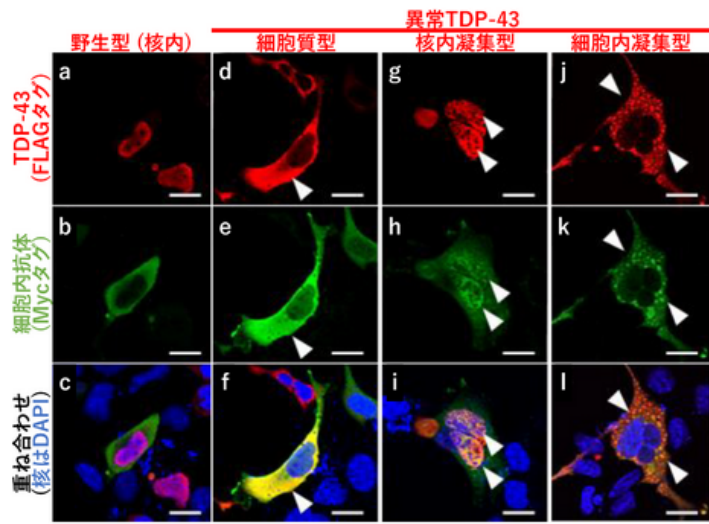


図1 TDP-43と3B12A scFv抗体を同時発現させたHEK293A細胞における細胞内局在 3B12A scFv抗体の存在箇所は異常TDP-43存在箇所と一致する (f, i, l) が、野生型TDP-43の存在箇所とは一致しない (c)。

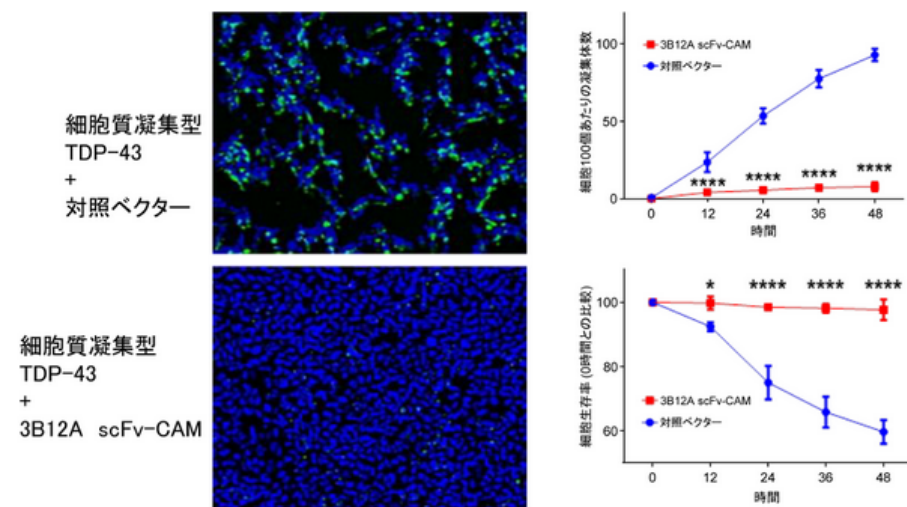


図2 TDP-43の細胞質凝集体毒性に対する3B12A scFv-CMAの効果 HEK293A細胞にGFPタグを付加したTDP-43と3B12A scFv-CMAあるいは対照ベクターを同時発現させた。3B12A scFv-CMAが発現していない条件ではTDP-43(緑)の凝集体が多数認められ生存細胞(青)が少ない。一方、scFv-CMAが発現している条件ではごく少数であり、生存細胞が多数認められる。

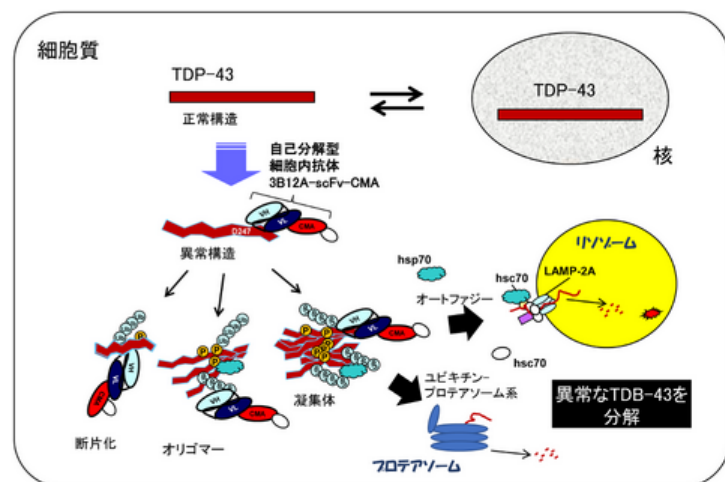


図3 自己分解型細胞内抗体3B12A-scFv-CMAによる異常構造TDP-43の認識と分解の概要



国立大学法人

滋賀医科大学
SHIGA UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCE

〒520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町

[交通・アクセス](#) | [キャンパスマップ](#) | [このサイトについて](#) | [お問い合わせ](#) | [関連リンク集](#) | [サイトマップ](#) |

© Shiga University of Medical Science. All rights reserved.