

脊髄小脳変性症3型の原因遺伝子*ATXN3*が、 筋萎縮性側索硬化症の病態に与える影響の解明

新潟大学脳研究所分子神経疾患資源解析学分野・助教

三橋（小池） 佑佳



【背景】

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は主に50歳代以降に発症する慢性進行性の神経変性疾患であり、長期の療養に伴い、家族や周囲への負担も大きくなる場合が多い。そのため、本疾患に対する根本的な治療法の確立が切望されているが、現状では、対症療法も含め治療法に乏しい。

ALS病態では、核蛋白TAR DNA-binding protein（TDP-43）の異常が背景に存在する。患者の運動神経細胞では、疾患早期より、核蛋白TDP-43が核から消失し、細胞質に凝集する。正常の細胞では、TDP-43は、核内で種々の機能に関わる。とくに重要な機能として、RNAに結合し、そのプロセッシングに関与する。ALS病態では、核内TDP-43枯渇によるRNA代謝の障害と、細胞質内TDP-43凝集に伴う細胞毒性が想定される。TDP-43の量だけでなく、細胞内分布の異常が病態に寄与するため、TDP-43自体の発現抑制や補充は治療戦略として有効ではない。そこで、TDP-43の毒性を軽減する修飾因子は、ALSの治療には重要である。TDP-43の凝集には、脊髄小脳変性症2型（SCA2）の原因遺伝子*ATXN2*が関与する（Elden, Nature 2010）。一方で、*ATXN2*以外の疾患修飾因子は同定されていない。

最近、*ATXN2*だけでなく、脊髄小脳変性症3型（SCA3）の原因遺伝子*ATXN3*における、CAG繰り返し配列の異常伸長も、ALSの発症リスクとなることが、孤発性ALS患者脊髄のRNAシーケンスの結果から示された（Humphrey, Nature Neurosci 2022）。また、SCA3患者の脊髄運動神経細胞やSCA3モデルマウスの中枢神経組織において、TDP-43が細胞質に蓄積することが、申請者の施設及び他施設より報告されている（Tan, Acta Neuropathol 2009, Seidal, Acta Neuropathol 2010, Jansen-West, Front Cell Dev Biol 2022）。これらの知見は、*ATXN3*の異常はALSの重要な疾患修飾因子である可能性を示す。しかし、SCA3患者の運動神経細胞でTDP-43病理が出現する病態機序は不明である。

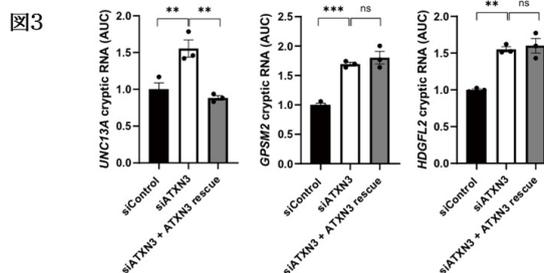
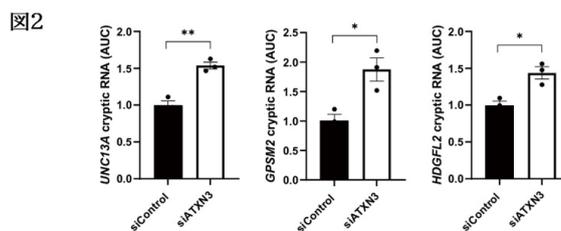
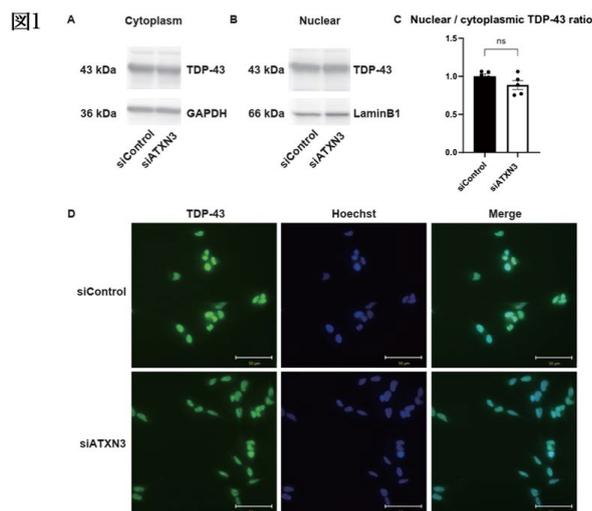
上記に基づき、申請者は、*ATXN3*の異常が、SCA3患者の運動神経細胞の核内において、TDP-43のRNA代謝を障害し、ALS類似の病態を惹起するのではないかと考えた。本研究では、この仮説を検証し、SCA3と孤発性ALSのクロストークを明らかにする。それにより、孤発性ALSにおいて、TDP-43の核内機能と関連した重要な修飾因子としての*ATXN3*の役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】

ヒト神経芽細胞種細胞（SHSY5Y）において、siRNAを用いた、*ATXN3*発現抑制によるTDP-43の局在・核内機能の変化を次のように検証した。まず、*ATXN3*の発現抑制による、内在性TDP-43の局在の変化をウエスタンブロットティング法及び免疫染色法により評価した。次に、*ATXN3*の発現抑制による、TDP-43標的スプライシングの変化を定量PCR（リアルタイムPCR）法により評価した。

【結果】

ATXN3の発現抑制状態において、ウェスタンブロッティングでは、TDP-43発現量の核／細胞質比は変化しなかった（図1：A-C）。また、免疫染色による観察でも、TDP-43の局在は変化しなかった（図1：D）。一方で、TDP-43をコードする*TARDBP*発現抑制下で、*ATXN3*の発現を抑制することにより、*TARDBP*単独の発現抑制状態と比較して、TDP-43がスプライシング標的とする複数の遺伝子（*UNC13A*、*GPSM2*、*HDGFL2*）のスプライシング異常が増強した（図2）。さらに、ATXN3発現抑制状態において、ATXN3（Q28）発現ベクターを一過性発現させることにより、*UNC13A*のスプライシング異常をレスキューすることができた。しかし、*GPSM2*、*HDGFL2*のスプライシング異常に関してはレスキューできなかった（図3）。



【考察】

ATXN3の機能不全は、TDP-43が有するRNA代謝能の一部を阻害することが明らかとなった。これはATXN3が、TDP-43の核内機能そのものではなく、その機能に関わる何らかの補助因子に影響していることを示唆する。今後、この補助因子を明らかにし、ATXN3がTDP-43の核内機能、とくにRNA代謝に関与するメカニズムを明らかにすることを目指す。