

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07397

研究課題名(和文) VCP変異による前頭側頭葉変性症における発生異常と晩発性病態の解明

研究課題名(英文) DNA damage in embryonic neural stem cell determines the fate of FTLD via early-stage neuronal necrosis

研究代表者

藤田 慶大(Fujita, Kyota)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・講師

研究者番号：40792205

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：私たちは、前頭側頭葉変性症(FTLD)の初期病態として、FTLD原因遺伝子変異を持つモデルマウスにおいて、神経幹細胞(NSC)のDNA損傷修復不全が神経新生異常をきたし、未修復のDNA損傷を引き継いだ神経細胞は、転写抑制による非典型ネクローシス(TRIAD)を誘発することを見出した。正常なVCPまたは非リン酸化変異体MCM3を発現するAAV遺伝子治療により、VCPT262A-KIマウスの神経細胞のDNA損傷、細胞死、認知機能、およびTDP43凝集を改善した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題の学術的意義として、前頭側頭葉変性症は、種々の原因遺伝子変異によって発症する多様な疾患グループであるにもかかわらず、神経幹細胞のDNA損傷修復不全から、超早期神経細胞ネクローシスを経て、変性タンパク質凝集につながる過程はどのタイプの前頭側頭葉変性症においても共通することを明らかにしたことを挙げる。

本課題の社会的意義は、超早期神経細胞ネクローシスを反映するバイオマーカーを開発できる可能性や、ウイルスベクターによる新たな治療法を開発できる可能性を見出したことである。

研究成果の概要(英文)：The early-stage pathologies of frontotemporal lobar degeneration (FTLD) remain largely unknown. In VCPT262A-KI mice carrying VCP gene mutation linked to FTLD, insufficient DNA damage repair in neural stem/progenitor cells (NSCs) activated DNA-PK and CDK1 that disabled MCM3 essential for the G1/S cell cycle transition. Abnormal neural exit produced neurons carrying over unrepaired DNA damage and induced early-stage transcriptional repression-induced atypical cell death (TRIAD) necrosis. In utero gene therapy expressing normal VCP or non-phosphorylated mutant MCM3 rescued DNA damage, neuronal necrosis, cognitive function, and TDP43 aggregation in adult neurons of VCPT262A-KI mice, whereas similar therapy in adulthood was less effective.

研究分野：脳神経科学

キーワード：前頭側頭葉変性症 VCP 神経幹細胞 細胞死

1. 研究開始当初の背景

前頭側頭葉変性症 (前頭側頭葉変性症)はアルツハイマー病、レビー小体型認知症に次ぐ有病率を示す認知症のひとつで、細胞内にタウ、TDP43 などの異常タンパク質が蓄積・凝集することで病理学的に診断される。前頭側頭葉変性症には、遺伝性の明瞭な家族性前頭側頭葉変性症と、遺伝性の不明瞭な孤発性前頭側頭葉変性症がある。VCP 遺伝子、PGRN 遺伝子、CHMP2B 遺伝子、TDP43 遺伝子などが、家族性前頭側頭葉変性症の代表的な原因遺伝子である。これらの遺伝子から産生されるタンパク質は、種々の機能を持つが、いずれも DNA 損傷の修復に重要な役割を果たすことで共通する。

一方、研究代表者・藤田の所属研究室 (東京医科歯科大学難治疾患研究所神経病理学分野、岡澤研究室)では、これまでに、損傷 DNA に対する修復機能の低下が神経変性疾患における共通の病態であることを、ハンチントン病や脊髄小脳失調症 1 型を含む複数の神経変性疾患において、世界に先駆けて報告してきた (Qi et al. *Nature Cell Biol* 2007; Enokido et al. *J Cell Biol* 2010; Fujita et al. *Nature Commun* 2013; Ito et al. *EMBO Mol Med* 2015; Taniguchi et al. *Hum Mol Genet* 2016)。その結果、DNA 修復機能低下が、神経変性疾患の共通病態として認められている。前頭側頭葉変性症においても、DNA 損傷修復不全が病態に関わる可能性があったが、詳細は明らかではなかった。また、本研究グループが、最近、アルツハイマー病態で明らかにしたような超早期病態 (凝集タンパク質の出現前に始まる病態)が存在するかどうかについても、明確な結論は出ていなかった。

VCP (TERA/VCP/p97)遺伝子の変異は、家族性前頭側頭葉変性症の原因として最も頻度の高いものである。前頭側頭葉変性症 (FTLD)はアルツハイマー病、レビー小体型認知症に次ぐ三大認知症の原因である。VCP 変異による分子病態機序の理解は不十分であり、当然ながら病態機序に基づく治療法の実用化には至っていない。研究代表者・藤田の所属研究室では、VCP 変異による疾患メカニズム解明を目的に変異 VCP ノックインマウス (VCP-KI マウス)を作成し、FTLD 様症状の再現に成功した。意外にも、出生時には脳サイズが小さく、成体に近づくにつれてキャッチアップすることを見出した。これは、胎児の脳形成期の異常が成体期の FTLD 病態に関係する可能性を示唆するが、FTLD 病態研究において、発達期から成体期までの脳サイズ変化に注目した研究はこれまでに報告がない。

2. 研究の目的

本研究では、FTLD における胎児期から生後成育期における異常と成体期の病態との因果関係を明らかにし、その基盤となる分子メカニズム解明を目指す。

3. 研究の方法

本研究では、前頭側頭葉変性症を呈する異なる原因遺伝子のモデルマウス (KI マウス)を、新規開発の 3 種類を含めて、トータルで 4 種類用いることによって、その胎児期から成体 (大人のマウス)に至る経過を詳細に調べた。特に、プロテオーム解析法を用いて、胎児期の脳組織中のタンパク質変化を網羅的に調べた。そして、検出されたタンパク質変化が出生後のモデルマウスの病態とどのように関わるかを調べ、さらに、患者から提供された剖検脳を用いて、モデルマウスで推定された新規病態を確認した。

4. 研究成果

本研究の成果として、主に下記の結果を得た。

1) 胎児期神経幹細胞の DNA 損傷が十分に修復されず、誘導される DNA 損傷ストレスが超早期 (タンパク質凝集が認められる遥か以前) に前頭側頭葉変性症病態の端緒となることを明らかにした。本研究グループが新規開発した、VCP 遺伝子変異ノックインマウスは、FTLD の症状を呈するが、発達期に小頭症を示すことがわかった。また、神経幹細胞における細胞周期 G1 期の遅延が、異常な神経新生につながり、小頭症を呈することがわかった。このとき、神経幹細胞では、VCP 機能不全により DNA 損傷修復機能が抑制され、DNA 損傷が蓄積することが明らかになった(図 1)

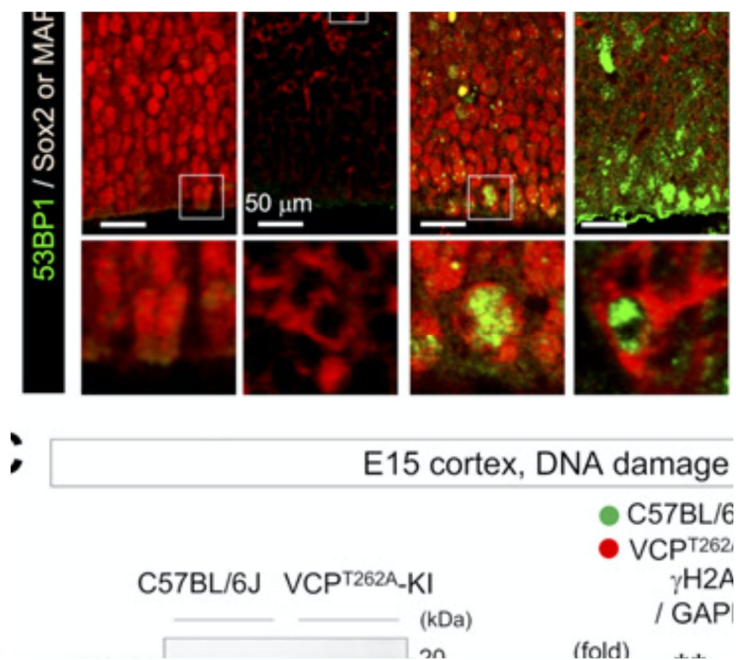


図 1 : 神経幹細胞および分化神経細胞に引き継がれる DNA 損傷

2) 神経幹細胞に蓄積した DNA 損傷は、神経幹細胞から神経細胞に分化した後にも持ち越されて、超早期の神経細胞のネクローシスにつながることを明らかにした (図 1、2)

3) 前頭側頭葉変性症は、種々の原因遺伝子変異によって発症する多様な疾患グループであるにもかかわらず、神経幹細胞の DNA 損傷から、超早期神経細胞ネクローシスを経て、変性タンパク質凝集につながる過程はどのタイプの前頭側頭葉変性症においても共通することを明らかにした。本研究グループは、VCP 遺伝子変異ノックインマウスの他に、PGRN 遺伝子変異ノックインマウス、CHMP2B 遺伝子変異ノックインマウス、TDP43 遺伝子変異ノックインマウスの 3 種の新規モデルマウスを作製した。いずれのモデルマウスにおいても、神経幹細胞において DNA 損傷が蓄積すること、また、生後超早期に神経細胞ネクローシスが起ること、さらに、TDP43 蓄積 (VCP 遺伝子変異ノックインマウス、PGRN 遺伝子変異ノックインマウス、TDP43 遺伝子変異ノックインマウス) p62 蓄積 (CHMP2B 遺伝子変異ノックインマウス) が起こる一連の過程を経ることを明らかにした。また、超早期神経細胞ネクローシスを反映するバイオマーカーを開発できる可能性があることを見出した。

4) 前頭側頭葉変性症の 4 種類のモデルマウスは、発達期に小頭症を示すが、成体 (大人のマウス) になるに従って、グリア細胞の増殖、神経細胞の体積増大によって、脳のサイズが正常化することを明らかにした。

5) 前頭側頭葉変性症に対して、ウイルスベクターによる新たな治療法を開発できる可能性があることを明らかにした。本研究では、正常 VCP 遺伝子、非リン酸化型 MCM3 遺伝子を発現させるアデノ随伴ウイルスを作製し、胎児期の FTLD モデルマウスへ投与した。結果、生後 1 ヶ月時点での脳サイズは正常に改善された。また、成体期の認知機能異常、変性タンパク蓄積も改善された。

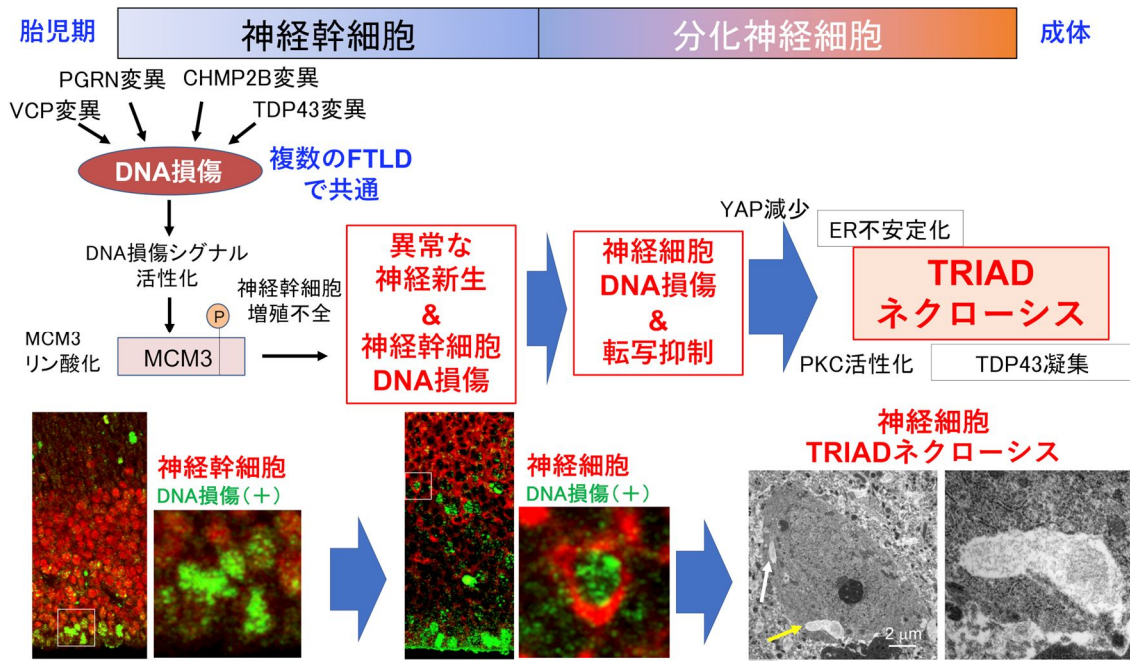


図 2 : 神経幹細胞 DNA 損傷を端緒とする、細胞死・前頭側頭葉変性症発症に至るプロセス

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Homma H, Tanaka H, Jin M, Jin X, Huang Y, Yoshioka Y, Bertens CJ, Tsumaki K, Kondo K, Shiwaku H, Tagawa K, Akatsu H, Atsuta N, Katsuno M, Furukawa K, Ishiki A, Waragai M, Ohtomo G, Iwata A, Yokota T, Inoue H, Arai H, Sobue G, Sone M, Fujita K, Okazawa H.	4. 巻 4
2. 論文標題 DNA damage in embryonic neural stem cell determines FTLDs' fate via early-stage neuronal necrosis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Life Sci Alliance.	6. 最初と最後の頁 e202101022
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.26508/lisa.202101022.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤田 慶大
2. 発表標題 胎児期神経幹細胞の DNA 損傷が早期神経細胞ネクローシスを介して FTLD 発症を運命付ける
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------