

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19515

研究課題名（和文）non-AUG翻訳と細胞ストレス応答のパラダイムコンバージェンス

研究課題名（英文）Paradigm convergence of non-AUG translation and cellular stress response

研究代表者

森 康治（Mori, Kohji）

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：40775318

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：C9orf72関連前頭側頭葉変性症・ALSにおけるRAN翻訳の詳細なメカニズムは未だ明らかでないが、これを選択的に抑制することができれば、新しい観点からの治療法になりうる。本研究では、RAN翻訳の調節因子として有望な因子を同定し、様々な角度から当該因子のRAN翻訳調節因子としての妥当性、蓋然性の検証を進め、現時点ではRAN翻訳の修飾因子として矛盾のない結果を得ている。研究成果をまとめて英文論文の投稿準備中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前頭側頭葉変性症という行動や言語の障害を引き起こす病気の仕組みを明らかにしようとする研究です。前頭側頭葉変性症の一部では、遺伝子上の特定の配列が異常に長く繰り返されることが原因となっている場合があり、この配列は未解明の特殊なメカニズムで毒性を持ったタンパク質へと翻訳されています。この研究では、細胞負荷の観点から、この特殊な翻訳の調整メカニズムの一端を明らかにし、将来の治療法開発の基盤となる知見を得ました。

研究成果の概要（英文）：Precise mechanism of repeat-associated non-AUG (RAN) translation remains obscure. Selective inhibition of RAN translation would be a therapeutic target for C9orf72 FTL/ALS.

In this study, we identified a candidate regulator of RAN translation. Ever since its identification, we have performed validation experiments from multiple aspects if the candidate indeed modulates RAN translation. Current experimental results support our conclusion.

研究分野：精神神経科学、神経変性疾患

キーワード：RAN翻訳 認知症 細胞ストレス non-AUG翻訳

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

タンパクをコードする可能性のある遺伝子配列は、open reading frame (ORF) と呼ばれる。ORF は開始コドンに始まり、3つの終止コドンのいずれかに終わるとされてきた。近年リボソームプロファイリングと呼ばれる包括的な解析により、数千もの翻訳開始イベントが AUG コドン以外に生じることが明らかとなってきた。このように AUG コドン以外から始まる翻訳を「開始コドン(AUG)非依存性翻訳」（以下、non-AUG 翻訳）とよぶ。

C9orf72 遺伝子のイントロン上に存在する GGGGCC リPEATの異常延長は前頭側頭葉変性症 (FTLD) や筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を引き起こす。

我々は、この非翻訳領域のリPEATが、non-AUG 翻訳により、ジペプチドの繰り返しモチーフを有するタンパク質へと翻訳されることを見だし、この異常タンパクをジペプチドリPEAT (DPR) タンパク質と名付けた (Mori et al Science 2013)。このリPEATに関連した non-AUG 翻訳を特に repeat associated non-AUG translation (RAN translation) と呼ぶ。

DPR タンパク質は C9orf72 遺伝子の ORF にコードされた C9orf72 タンパクとは全く異なるタンパク質であり、変異保持者の脳に特徴的な形態の神経細胞内封入体を形成する。RAN 翻訳によるリPEATタンパク質の産生は、近年、他のリPEAT関連疾患においても報告されている。

こうしたリPEATタンパク質の多くは極めて偏ったアミノ酸組成を持つことから強い凝集性や細胞毒性を有し、DPR の毒性は細胞やショウジョウバエモデル、マウスモデルなどで既に立証されている。したがって薬剤により RAN 翻訳をうまく制御し、リPEATタンパクの産生を選択的に阻止できれば、C9orf72 関連 FTLD/ALS や他のリPEAT関連疾患の画期的な治療薬となりうると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、細胞ストレス応答時に発動される翻訳メカニズムなどが、開始コドン(AUG)に依存しない特殊な翻訳機構による異常タンパクの産生に寄与している可能性に着目し、リPEAT関連開始コドン非依存性翻訳の詳細な仕組みを明らかにすることで C9orf72 FTLD/ALS を含むリPEAT関連疾患において、将来の治療薬開発に貢献することである。

### 3. 研究の方法

我々が開発した GGGGCC という 6 塩基を 80 回直列に繰り返した C9orf72 リPEATを発現させた培養細胞モデルにおいて、いくつかの候補因子について siRNA によるノックダウンスクリーニングを行った。その結果同定された non-AUG 翻訳調整候補分子について、そのリPEAT翻訳への影響、RNA 代謝、発現レベルへの影響など様々な角度から分子生物学的に精緻な検証実験を行った。

#### 4. 研究成果

前述した C9orf72 GGGGCC リピート発現培養細胞モデルを用いて siRNA によるノックダウンスクリーニングを行った結果、ある分子が RAN 翻訳産物を特異的に発現増加する方向に調節している可能性を見出した。実際、ノックダウンとは逆に C9orf72 GGGGCC リピート発現培養細胞モデルに当該分子を発現させたところ、RAN 翻訳産物の発現が増加した。GGGGCC リピート RNA の発現レベルの変化は、RAN 翻訳産物の発現レベルの変化と必ずしも一致しなかったことから、当該因子は GGGGCC リピート RNA の発現レベルの変化を直接介さずに RAN 翻訳産物を増加させていると考えられた。

このように本研究では、当該因子の同定に続いて、様々な角度から当該因子の RAN 翻訳調節因子としての妥当性、蓋然性の検証を進めている。現時点で得られているデータからでは、当該因子を RAN 翻訳の新規修飾因子と考えて矛盾のない結果を得ている。

残念ながら RAN 翻訳が細胞ストレス時に増加すること自体は、最近複数の外国のグループから Nature Communications 誌等に報告されたが、その詳細なメカニズムは未だ明らかでなく、本研究が学術の進歩に貢献するところは大きいと考えられる。

また本研究と関連して、我々は RAN 翻訳のテンプレートとなる GGGGCC リピート RNA の代謝機序を明らかにしようとする関連研究において、GGGGCC リピート RNA の代謝機序として、細胞内で異常な RNA を分解する酵素としても知られている RNA エクソソーム複合体が GGGGCC リピート RNA を分解していることを明らかにして、2020 年に The EMBO Journal 誌に報告 (Kawabe Y, Mori K\* et al) したが、その中で、アルギニン残基を豊富に含有する DPR タンパク質が RNA エクソソーム複合体による GGGGCC リピート RNA の分解を阻害し、リピート RNA の発現量を増大させることを明らかにした。RAN 翻訳産物自体がテンプレートとなるリピート RNA の代謝を阻害することで、次の RAN 翻訳を刺激している可能性があり、本研究との関連で興味深い知見であった。

RAN 翻訳の調整機構に着目した本研究の成果については、毎年その進捗の一部を国内の学会（日本神経化学会、認知症学会等）で発表しており、毎回高い関心、評価を得ている。また現時点までの研究成果をまとめており、現在、英文論文の投稿に向けて準備を進めている。

本研究で得られた知見により、RAN 翻訳をうまく制御し、有毒なリピートタンパクの産生を選択的に阻止できれば、C9orf72 関連 FTLD/ALS や他のリピート関連疾患の画期的な治療薬となると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nihei Y, Mori K, Werner G, Arzberger T, Zhou Q, Khosravi B, Japtok J, Hermann A, Sommacal A, Weber M, German Consortium for Frontotemporal Lobar Degeneration, Bavarian Brain Banking Alliance, Kamp F, Nuscher B, Edbauer D, Haass C	4. 巻 139
2. 論文標題 Poly-glycine-alanine exacerbates C9orf72 repeat expansion-mediated DNA damage via sequestration of phosphorylated ATM and loss of nuclear hnRNPA3	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica	6. 最初と最後の頁 99 ~ 118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00401-019-02082-0	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 該当する

1. 著者名 van Well EM, Bader V, Patra M, Sanchez-Vicente A, Meschede J, Furthmann N, Schnack C, Blusch A, Longworth J, Petrasch-Parwez E, Mori K, Arzberger T, , , , Hartl FU, Tatzelt J, Winklhofer KF	4. 巻 38
2. 論文標題 A protein quality control pathway regulated by linear ubiquitination	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.2018100730	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 該当する

1. 著者名 後藤 志帆, 森 康治	4. 巻 30
2. 論文標題 前頭側頭葉変性症に関与する遺伝子	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 老年精神医学雑誌	6. 最初と最後の頁 1244-1252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsunaga Hidenori, Fukumori Akio, Mori Kohji, Honda Tomoyuki, Uema Takeshi, Tomonaga Keizo	4. 巻 71
2. 論文標題 Two Neuropsychiatric Cases Seropositive for Bornavirus Improved by Ribavirin	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 338 ~ 342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2017.585	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 池田学 森康治	4. 巻 21
2. 論文標題 前頭側頭型認知症への薬物療法的アプローチは	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床精神医学	6. 最初と最後の頁 29-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawabe Yuya, Mori Kohji, Yamashita Tomoko, Gotoh Shiho, Ikeda Manabu	4. 巻 39
2. 論文標題 The RNA exosome complex degrades expanded hexanucleotide repeat RNA in C9orf72 FTLN / ALS	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.2019102700	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 -

1. 著者名 Akamine Shoshin, Marutani Noriko, Kanayama Daisuke, Gotoh Shiho, Maruyama Riki, Yanagida Kanta, Sakagami Yukako, Mori Kohji, Adachi Hiroyoshi, Kozawa Junji, Maeda Norikazu, Otsuki Michio, Matsuoka Takaaki, Iwahashi Hiromi, Shimomura Iichiro, Ikeda Manabu, Kudo Takashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Renal function is associated with blood neurofilament light chain level in older adults	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-76990-7	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 -

1. 著者名 森 康治	4. 巻 38
2. 論文標題 RAN翻訳とC9orf72-FTLN/ALS病態	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2159-2164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 森 康治	4. 巻 31
2. 論文標題 前頭側頭葉変性症の分子基盤	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本生物学的精神医学会誌	6. 最初と最後の頁 165-169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 森 康治, 佐藤 俊介, 宮脇 英子, 池田 学	4. 巻 72
2. 論文標題 前頭側頭葉変性症への対応と支援	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BRAIN and NERVE	6. 最初と最後の頁 623-632
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 森 康治
2. 発表標題 (シンポジウム5 前頭側頭型認知症とその関連疾患の最先端) C9orf72変異をともなう前頭側頭型認知症の病態
3. 学会等名 第39回 日本認知症学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森 康治
2. 発表標題 C9orf72リピート延長変異FTLDにおける分子細胞病態
3. 学会等名 第35回日本老年精神医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 後藤 志帆, 森 康治, 河邊 有哉, 近江 翼, 山下 智子, 池田 学
2. 発表標題 C9orf72遺伝子関連FTLD/ALSにおけるRAN翻訳の調整機構の解明
3. 学会等名 第39回 日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shiho Gotoh, Kohji Mori, Yuya Kawabe, Tsubasa Omi, Tomoko Yamashita, Manabu Ikeda
2. 発表標題 Regulating repeat associated non-ATG translation in a cellular model of C9orf72 FTLD/ALS
3. 学会等名 第63回日本神経化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森 康治, 河邊 有哉, 後藤 志帆, 山下 智子, 池田 学
2. 発表標題 C9orf72リピート延長変異FTLD/ALSにおけるRNA代謝障害
3. 学会等名 第63回日本神経化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河邊 有哉, 森 康治, 山下 智子, 後藤 志帆, 池田 学
2. 発表標題 C9orf72関連FTLD/ALSにおける異常リピートRNAの蓄積機序
3. 学会等名 第39回 日本認知症学会学術集会 (名古屋) 2020.11.26-28
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 後藤志帆, 森康治, 河邊有哉, 近江翼, 山下智子, 池田学
2. 発表標題 リボソーム結合因子によるリピート関連ATG非依存性(RAN)翻訳の調節
3. 学会等名 第38回 日本認知症学会 学術集会(東京)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shiho Gotoh, Kohji Mori, Yuya Kawabe, Tsubasa Omi, Tomoko Yamashita, Manabu Ikeda.
2. 発表標題 Modulating repeat translation in a cellular model of C9orf72 FTL/ALS
3. 学会等名 NEURO2019, 新潟
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 康治
2. 発表標題 C9orf72リピート延長変異による前頭側頭葉変性症の分子基盤
3. 学会等名 第3回 和光-精神神経懇話会筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構(WPI-IIIS)(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 康治
2. 発表標題 前頭側頭葉変性症の分子基盤
3. 学会等名 第41回 日本生物学的精神医学会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kohji Mori
2. 発表標題 A modifier of the unconventional aggregate pathologies in C9orf72-FTLD/ALS
3. 学会等名 The 19th International Congress of Neuropathology (ICN2018) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mori K, Nihei Y, Kawabe Y, Zhou Q, Yamashita T, Arzberger T, Edbauer D, Ikeda M, Haass C
2. 発表標題 ENDOGENOUS AND EXOGENOUS MODULATIONS OF DPR EXPRESSION FROM C9ORF72 REPEAT EXPANSION
3. 学会等名 11th International Conference on Frontotemporal Dementias (ICFTD2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuya Kawabe, Kohji Mori, Tomoko Yamashita, Manabu Ikeda
2. 発表標題 A degradation pathway for the FTL D causing C9orf72 repeat RNA
3. 学会等名 11th International Conference on Frontotemporal Dementias (ICFTD2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河邊 有哉 森 康治、山下 智子、池田 学
2. 発表標題 前頭側頭葉変性症に関連した異常RNAの分解機序の検討
3. 学会等名 第37回 日本認知症学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森 康治
2. 発表標題 Unconventional aggregate pathologies and their modifier in C9orf72-FTLD/ALS
3. 学会等名 京都大学iPS細胞研究所 セミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森 康治
2. 発表標題 C9orf72リピート変異による前頭側頭葉変性症の分子病態
3. 学会等名 第1回 NPRF (Neurology and Psychiatry Research Forum) (招待講演)
4. 発表年 2018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