



Title	PABPC1 mediates degradation of C9orf72-FTLD/ALS GGGGCC repeat RNA
Author(s)	魚住, 亮太
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105707
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	魚住 亮太
論文題名 Title	PABPC1 mediates degradation of <i>C9orf72</i> -FTLD/ALS GGGGCC repeat RNA (Poly-A結合タンパク質PABPC1は, <i>C9orf72</i> 関連前頭側頭葉変性症/筋萎縮性側索硬化症における病源性GGGGCCリピートRNAの分解を媒介する)
論文内容の要旨 〔目 的 (Objective)〕 <i>C9orf72</i>遺伝子内イントロンにおける6塩基 (GGGGCC) リピート配列の異常伸長は, 家族性の前頭側頭葉変性症/筋萎縮性側索硬化症 (FTLD/ALS) に最も高頻度に見られる遺伝子変異であり, <i>C9orf72</i>関連前頭側頭葉変性症/筋萎縮性側索硬化症として知られる (C9-FTLD/ALS). 異常伸長領域を含んだRNA (GGGGCCリピートRNA) の沈着 (RNA foci) やATG非依存性翻訳産物 (DPRタンパク質) の凝集がC9-FTLD/ALS病態を引き起こすと考えられている. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3 (hnRNP A3) はGGGGCCリピートRNA結合タンパク質として知られ, GGGGCCリピートRNAやDPRタンパク質の発現量を低下させる機能をもつことが培養細胞や患者由来細胞株, ショウジョウバエを用いた系で報告されている. こうした知見はhnRNP A3がGGGGCCリピートRNAの分解を促進する機能をもつことを示唆しているが, 直接的なRNA分解能をもたないhnRNP A3がどのようにGGGGCCリピートRNAの分解促進に関与しているかは未解明な部分が多い. そこで本研究では, hnRNP A3が細胞内でGGGGCCリピートRNA分解関連タンパク質と相互作用していると考え, それらの同定と機能解析をおこなうことを目的とした. 〔方 法 (Methods)〕 細胞内でhnRNP A3との相互作用タンパク質を同定する方法として, 近接バイオチン標識法の一つであるAPEX2プロテオミクスをおこなった. この方法ではまず, (GGGGCC)₈₀リピートを再現した伸長変異モデルHeLa細胞にhnRNP A3-APEX2融合タンパク質を発現させた. 次に, 当該細胞を過酸化水素で処理することでhnRNP A3-APEX2の近傍の相互作用分子をバイオチン標識した. そして, それらの標識分子をプルダウンおよび精製したのちLC-MS/MS法で同定した. 同定されたhnRNP A3相互作用タンパク質のGGGGCCリピートRNA分解能の解析として, Gene-Ontology解析および逆転写qPCR法を用いたノックダウンスクリーニングを実施した. それに続いて, (GGGGCC)₈₀リピートモデル細胞や伸長変異保持患者由来細胞における核内RNA foci形成への影響を蛍光<i>in situ</i> hybridization (FISH) 法により検討した. 〔成 績 (Results)〕 APEX2プロテオミクス法により (GGGGCC)₈₀リピートモデル細胞におけるhnRNP A3の相互作用タンパク質190種が同定されたが, その中にRNaseのような既知のRNA分解タンパク質は含まれていなかった. そこでさらなる解析のために Gene-Ontology enrichment解析をおこなったところ, RNA結合タンパク質 (GO: 0003723) がエンリッチされていた. そこで, hnRNP A3との相互作用が特に大きく変動していたRNA結合タンパク質9種を対象にノックダウンスクリーニングを実施したところ, Poly-A binding protein cytoplasmic isoform 1 (PABPC1) の発現量の低下により, (GGGGCC)₈₀リピートRNAレベルが増加することが明らかとなった. また, 伸長変異保持患者由来の繊維芽細胞においてPABPC1の発現量を低下させると核内RNA fociの形成促進が認められた. さらに, hnRNP A3とPABPC1をシングルノックダウンまたはダブルノックダウンした細胞間において核内RNA foci数に相加的な効果は見られなかった. 〔総 括 (Conclusion)〕 本研究では, hnRNP A3相互作用タンパク質の内, GGGGCCリピートRNAの分解を促進する因子としてPoly-A結合タンパク質PABPC1を同定した. また, PABPC1とhnRNP A3は同一のGGGGCCリピートRNA分解経路で共役し, その分解に媒介している可能性を示した.	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 魚住 亮太				
論文審査担当者	(職)		氏 名	
	主 査	大阪大学教授	池田 学	池田 学
	副 査	大阪大学教授	山本 浩一	山本 浩一
	副 査	大阪大学教授	木村 亮	木村 亮

論文審査の結果の要旨

*C9orf72*遺伝子内の6塩基 (GGGGCC) リピート配列の異常伸長は、家族性前頭側頭葉変性症/筋萎縮性側索硬化症 (FTLD/ALS) に最も高頻度にみられる遺伝子変異であり、こうした疾患スペクトラムは*C9orf72*関連前頭側頭葉変性症/筋萎縮性側索硬化症として知られる (C9-FTLD/ALS)。C9-FTLD/ALS病態を引き起こす分子メカニズムの一つとして、異常伸長領域を含んだRNA (GGGGCCリピートRNA) の産生が考えられている。

本論文では、病原性GGGGCCリピートRNAの分解に関与すると考えられたHeterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3 (hnRNP A3) に着目し、その相互作用タンパク質を網羅的に解析することでGGGGCCリピートRNA分解経路の一端を明らかにすることを目指した。機能解析などの結果から、hnRNP A3の相互作用タンパク質の中のうちPoly-A binding protein cytoplasmic isoform 1 (PABPC1)がGGGGCCリピートRNA分解関連因子として同定された。加えて、PABPC1が細胞内RNA分解酵素と相互作用を有することを示し、PABPC1が介在するGGGGCCリピートRNA分解経路を明らかにした。

本論文は病原性GGGGCCリピートRNAの分解に着目し、PABPC1介在経路を標的としたC9-FTLD/ALS治療法の開発に資するものであることから、博士 (医学) の学位授与に値する。