

Title	eIF5 stimulates the CUG initiation of RAN translation of poly-GA dipeptide repeat protein (DPR) in C9orf72 FTL/ALS
Author(s)	後藤, 志帆
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/96295
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	後藤 志帆
論文題名 Title	eIF5 stimulates the CUG initiation of RAN translation of poly-GA dipeptide repeat protein (DPR) in <i>C9orf72</i> FTLD/ALS (<i>C9orf72</i> FTLD/ALSにおいてeIF5はCUG開始によるpoly-GAジペプチドリピータンパク質のRAN翻訳を促進する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 <p><i>C9orf72</i> 遺伝子におけるGGGGCCタンデムリピート配列の異常伸長はfrontotemporal lobar degeneration (FTLD) とamyotrophic lateral sclerosis (ALS)の遺伝的な原因の1つである。転写されたRNAはrepeat-associated non-AUG (RAN)翻訳を介してdipeptide repeat proteins (DPR)に翻訳される。DPRは<i>C9orf72</i> FTLD/ALS患者の脳内に蓄積し、その毒性は様々なモデルで証明されている。しかしながら、RAN翻訳の詳細なメカニズムは未だ明らかでない。本研究ではGTPase-activating proteinであるeukaryotic initiation factor 5 (eIF5)が<i>C9orf72</i> FTLD/ALSにおけるRAN翻訳の新規修飾因子である可能性に着目し、そのRAN翻訳への影響を詳細に検証した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 <p>本研究ではRAN翻訳のモデル細胞としてGGGGCCリピートプラスミドをトランスフェクションしたHeLa細胞を主に用いた。このモデル細胞においてeIF5をノックダウンすると主要なDPRであるpoly-(Glycine-Alanine)GAが減少した。逆に野生型のeIF5を過剰発現するとpoly-GAの発現量は増加したが、不活性型の変異eIF5を過剰発現してもPoly-GAの増加はみられなかった。更に新規タンパク質合成をモニターする手法であるピューロマイシン取り込みアッセイにより、eIF5が翻訳全体ではなくpoly-GAのRAN翻訳を優先的に促進することも明らかにした。</p> <p>eIF5はintegrated stress response (ISR)において主要な役割を果たすeIF2複合体と結合することが知られていることから、eIF5とISRとの関係性についても検討した。まず既報の通り亜ヒ酸ナトリウムによるISR誘導によって細胞のリン酸化eIF2αは増加し、RAN翻訳によるpoly-GA産生も増加した。ここにeIF5を過剰発現したところ、eIF5によるpoly-GA RAN翻訳促進効果はISR誘導によるRAN翻訳促進に対して相加的であった。興味深いことにeIF5過剰発現によるリン酸化eIF2αの増加は認められなかった。</p> <p>またeIF5の<i>C9orf72</i>のGGGGCCリピートにおける作用点についても検討した。poly-GAの翻訳開始部位とされるGGGGCCリピートの5'側上流に位置するnear cognateであるCUGコドンnear cognateではないCCGあるいは一般的な開始コドンであるAUGコドンに変えると、それぞれeIF5のPoly-GA翻訳促進作用は妨げられた。このことは、eIF5が主にCUGコドン依存的な翻訳開始に機能していることを示唆している。</p> <p>さらにGGGGCCリピートを発現する<i>C9orf72</i> FTLD/ALSショウジョウバエモデルで内因性のeIF5をノックダウンした際にはPoly-GAの発現量が有意に減少することが確認され、<i>in vivo</i>疾患モデルでもeIF5がpoly-GAのRAN翻訳を促進していることが確認された。</p>	
〔総括(Conclusion)〕 <p><i>C9orf72</i> FTLD/ALSの培養細胞モデルやショウジョウバエモデルを用いてeIF5がCUGコドン依存性のpoly-GA RAN翻訳を優先的に促進していることを見出した。RAN翻訳の機序の解明は緒についたばかりであるが、本研究によりeIF5はpoly-GA RAN翻訳の修飾因子であることを明らかにした。さらにeIF5はRAN翻訳阻害薬の潜在的な標的分子となる可能性も示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 後藤 志帆				
論文審査担当者	(職)	氏	名	
	主査	大阪大学教授	池田	孝 署名
	副査	大阪大学教授	工藤	喬 署名
	副査	大阪大学教授	島田	昌一 署名

論文審査の結果の要旨

C9orf72 遺伝子の非翻訳領域におけるGGGGCCリピート異常伸長変異は前頭側頭葉変性症(FTLD)と筋萎縮性側索硬化症(ALS)を引き起こす。転写されたRNAは開始コドン非依存性の非定型翻訳(RAN翻訳)によってジペプチドリピータンパク質(DPR)に翻訳される。DPRは変異保持者の脳に蓄積し高い毒性を持つとされている。しかしながらRAN翻訳の詳細なメカニズムは未だ明らかになっておらず、疾患修飾薬も存在しない。

本研究はGTPase-activating proteinであるeIF5が*C9orf72* FTLD/ALSにおけるRAN翻訳に与える影響を検証したものである。*C9orf72* FTLD/ALSの培養細胞モデルやショウジョウバエモデルを用いた実験により、eIF5がCUGコドン依存的にDPRの1種であるpoly-GAのRAN翻訳を促進していることを見出した。

本研究成果は*C9orf72* 遺伝子変異のRAN翻訳の詳細なメカニズムを解明するうえで重要であり学位の授与に値すると思われる。