

平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開版】

1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

事業名	革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト	
研究開発課題名	変性性認知症による脳機能ネットワーク異常の全容解明 (TDP-43 のシナプス伝播を介した病態解明)	
機関名	公益財団法人東京都医学総合研究所	
研究開発 担当者	所属 役職	認知症・高次脳機能研究分野 分野長
	氏名	長谷川 成人

2. 研究開発成果の内容

①凝集に関わる配列の特定

20 残基、あるいは 40 残基を欠損させた TDP-43 部分欠損体を GFP 融合タンパク質として SY5Y 細胞に発現させ、免疫組織、生化学解析を行った結果、TDP-43 の凝集にはその C 末端領域 274~373 が必須であることを特定した。特定された配列(274-353)は、プリオン(PRNP)と相同性が高く、変異も集中している領域であった。

②C 末端断片の発現と線維化の検討

特定された凝集に重要な配列とその周辺について、40 アミノ酸からなるペプチドを合成し、それがアミロイド様線維を形成するかどうか検討した結果、TDP-43 の 234-273、274-313、314-354 のいずれの合成ペプチドもアミロイド様線維を形成したが、274-313、314-354 の 2 種類の合成ペプチドがよりも強い線維化傾向を示した。

③TDP-43 の細胞間伝播の検討

培養細胞内で線維化した異常 TDP-43 が細胞間を伝播する可能性について、線維化した合成ペプチドが正常 TDP-43 を異常型に変換する能力があるか細胞内に導入して検討した結果、274-313、314-354 のいずれのペプチド線維もシードとして働き、正常 TDP-43 を異常型に変換することが示された。細胞内に形成された異常型 TDP-43 とそのトリプシン耐性バンドを実際の患者脳に蓄積する異常型 TDP-43 と比較した結果、良く似たバンドパターンであり、実際の TDP-43 凝集を再現している可能性が高いことが示唆された。またリポフェクション試薬無しでも効率は低いながら細胞内にとりこまれ、細胞内 TDP-43 を異常型に変換することが観察された。