ショウジョウバエモデルでALSに挑む 京都工芸繊維大学・応用生物学系・昆虫先端研究推進センター 山口政光

Science Art Science 共同研究者 京都工芸繊維大学 A. Kyotani A. Nakamura Y. Muraoka S. Jantrapirom INSTELEVITE H. Yoshida 京都府立医科大学 Y. Azuma Y. Kushimura I. Mizuta **Science and Art meet in Kyoto** T. Tokuda T. Mizuno

私のキャリアパス カリフラワーからショウジョウバエに至るまで

京都工芸繊維大学 山口政光

学歴

昭和52年 3月31日 神戸大学 理学部 生物学科 卒業 カリフラワーRNAポリメラーゼの研究 昭和54年 3月31日 神戸大学大学院 理学研究科 修士課程 修了 カリフラワーDNAポリメラーゼの研究 昭和54年 4月1日~昭和58年 3月31日 愛知県がんセンター研究所研修生(指導者:松影昭夫 博士) 昭和58年 3月31日 大阪大学大学院 医学研究科 博士課程 修了・医学博士 ニワトリ胚DNAポリメラーゼの研究

職歴

昭和58年 4月1日~昭和60年 7月31日 米国ハーバード大学 医学部 SV40ウイルスDNA複製の研究 生物化学部門 博士研究員(指導者 Melvin L. DePamphilis 教授) 昭和60年 8月1日 愛知県がんセンター研究所 生物学部 研究員 マウスDNAポリメラーゼ遺伝子の研究 平成 3年 4月1日 愛知県がんセンター研究所 生物学部 主任研究員 平成 6年 4月1日 愛知県がんセンター研究所 生物学部 室長 ショウジョウバエDNA複製遺伝子の研究 平成13年 7月1日~現在 京都工芸繊維大学・応用生物学系 教授









筋萎縮性側索硬化症(ALS)

疫学

- 人口10万あたり約5人(全国 約5000人)
- そのうち約90%は孤発性(約10%が遺伝性)
- 約90%が40歳以降に発症

臨床症状:下記の症状が発症して徐々に進行

- 1)上位運動神経(1次ニューロン)障害
- 腱反射亢進、病的反射、痙性麻痺 2)下位運動神経(2次ニューロン)障害
- 筋萎縮, 筋力低下(四肢麻痺, 嚥下障害, 呼吸障害)

治療・予後:根本治療薬は無い

• 人工呼吸器を用いない場合は、平均的な生存期間は2~5年

なぜ ショウジョウバエ?





モデル生物ショウジョウバエの特徴

■遺伝学・発生生物学的知見の蓄積 ■70%の遺伝子がヒトと共通(疾患関連遺伝子は75%) (線虫・酵母よりヒトに近くシングル遺伝子) ■世代時間が短く(10日間)飼育コストも安い ■遺伝子導入系統の作製が簡単 ■突然変異系統が入手可能 (14,000 遺伝子, 27,000 突然変異系統) ■多数の個体を同時に使用可能 (ゲノムワイドな遺伝的スクリーニング) ■倫理面での制約が無い





疾患モデルショウジョウバエを用いた治療薬候補同定までの流れ



薬剤代謝・効果等:昆虫では血糖降下薬、中性脂肪降下剤、抗生剤、毒性試験など 哺乳動物と同じ効果

ヒト神経変性疾患モデルショウジョウバエを用いた研究論文数



遺伝性ALSの原因遺伝子

優性

ALS 1: SOD1; 21q ALS 3: 18q21 ALS 4: Senataxin; 9q34 ALS 6: FUS; 16p11 ALS 7: 20p13 ALS 8: VAPB; 20q13 ALS 9: Angiogenin; 14q11 ALS 10: TDP-43; 1p36 ALS 11: FIG4; 6q21 ALS 12: OPTN; 10p15 ALS 13: Ataxin-2: 12q24 ALS 14: VCP; 9p13 ALS 18: PFN1; 17p13 ALS 19: ErbB4; 2q34 ALS 20: HNRNPA1; 12q13 ALS 21: Matr3; 5q31 ALS: DAO; 12q24 ALS-FTD: c9orf72; 9p21 **ALS-FTD:** 16p12 ALS-FTD: CHCHD10; 22q11 ALS-FTD: GRN; 17q21

X-linked Dominant ALS 15: UBQLN2; Xp11

劣性

ALS 2: Alsin; 2q33 **ALS 5:** Spatacsin; 15q21 ALS 6: FUS; 16p11 ALS 12: OPTN; 10p15 ALS 16: SIGMAR1; 9p13 ALS 6-21: 6p25, 21q22 SPG39: PNPLA6; 19p13 MPAN: c19orf12; 9q12 原因遺伝子が30個以上 他(孤発性) ALS 1: SOD1; 21q ALS-FTD-3: CHMP2B; 3p11 ALS: NEFH; 22q12 Peripherin: 12q12 ALS 6: FUS; 16p11 EW<u>SR1</u>: 22q12 <u>SQSTM1</u> (p62): 5q35

<u>TAF15</u>: 17q12

ヒトALS原因因子 FUS



ヒトFUSとそのショウジョウバエホモログCabeza (Caz)



Caz ノックダウンショウジョウバエは運動能力低下を示す: 成虫クライミングアッセイ





サマリー

Cabeza (Caz) ノックダウンショウジョウバエ

運動能力低下 神経・筋接合部の形態異常

PLoS ONE 2012

複眼形態異常(ラフアイ表現型)

Exp Cell Res 2014

GMR-GAL4/y; UAS-Caz-IR₃₆₃₋₃₉₉/+





CabezaとEGFRシグナル伝達経路がリンク



GMR-GAL4/y;+;+



GMR-GAL4/y; UAS-Caz-IR₃₆₃₋₃₉₉/ +; + Caz ノックダウン rhomboid 変異

GMR-GAL4/y; UAS-Caz-IR₃₆₃₋₃₉₉/rho²⁸⁶⁹⁰; +





個眼あたり4つの コーン細胞



コーン細胞の融合





Cabeza とショウジョウバエ VCP (ter94)が遺伝学的相互作用する



GMR-GAL4; UAS-*Caz-*IR₃₆₃₋₃₉₉/+; + *GMR-GAL4;* UAS-*Caz-*IR₃₆₃₋₃₉₉ /UAS-*GFP;* +

増強

/ter94^{k15502}; +

UAS-Caz-IR363-399





Caz ノックダウン系統が示す運動能力低下をter94 (VCP) 突然変異が増強し ter94 (VCP)過剰発現が抑圧する





Caz ノックダウン系統が示す核内Caz シグナルの低下がter94(VCP) 過剰発現により回復する

コントロール



VCP 過剰発現

elav>UAS-Caz-IR/UAS-ter94 (Caz-IR × ter94 overexpression)





Cazノックダウンが誘導する表現型のVCP過剰発現による回復は核・ 細胞質間輸送におけるVCPの役割で説明できる



dUbqnノックダウンショウジョウバエは運動能力低下を示す



ショウジョウバエ幼虫の学習・記憶能力評価



AM, n-amyl acetate OCT, 1-octanol FRU, fructose or sucrose

dUbqnノックダウンショウジョウバエは学習能力低下を示す



シャルコー・マリー・トゥース病(CMT)原因遺伝子



CMT原因遺伝子FIG4ノックダウンショウジョウバエ

ショウジョウバエFIG4 (CG17840)

GAL4-UAS 標的発現システムによるFIG4ノックダウン

FIG4ノックダウンショウジョウバエは寿命短縮を示す

FIG4ノックダウンショウジョウバエは運動能力低下を示す

成虫クライミングアッセイ

FIG4ノックダウンショウジョウバエは神経・筋接合部の シナプス長の短縮を示す

希少難病原因遺伝子がたどる共通経路の探索

国内共同研究ネットワーク

