

伝子が野生型であるか変異型であるかにより差があったとする研究もあるが、むしろ野生型でも変異型と同様の表現型が得られたとする研究が多い。前述のように導入遺伝子の発現量がある程度以上でないと表現型が現れない、また、発現量が多すぎると短命となる、またホモとヘテロとの比較でホモにのみ症状が認められた、といった報告がある。複数の研究者が、導入遺伝子の発現量が増加するに伴いマウス内在性TDP-43のmRNA量や蛋白量が減少することを指摘している。

これらTgマウスの脳脊髄の病理所見としては、神経細胞、特に皮質錐体細胞や脊髄前角細胞の変性、ミトコンドリアの異常凝集、細胞質へのユビキチン陽性蓄積物の出現、それらがリン酸化TDP-43陽性を示すこと、異常細胞における核TDP-43の減少～消失 (FTLD-TDP, ALSの封入体陽性細胞と類似の所見)、核内TDP-43陽性封入体出現などが、それぞれの研究ごとに様々に報告されている (表1)。生化学的にヒト疾患での所見を十分に再現したと考えられるTgマウス系統はないように思われるが、C末側断片の形成、可溶性の変化などを示した研究はある。またヒトALSやFTLDにおける重要な特徴である、正常な発育と加齢後の発病、進行性の神経細胞変性、といった点をきちんと再現していると考えられる系統はないか、あったとしても僅かであるように見受けられる。重要な点は、複数の研究者が、運動機能障害やその背景となる神経細胞変性と、TDP-43異常蓄積とが必ずしも相関しないことを指摘していることである。

なお、全長ではなく25kDaのC末側断片のみを発現させたTgマウスも作られており<sup>10)</sup>、このマウスでは可溶性画分のC末側断片増加が行動異常や内在性マウスTDP-43のプロセッシング異常を引き起こしたと報告されている。この著者らは、封入体形成や神経細胞変性は必ずしも症状発現に必須ではなく、このC末側断片が神経細胞の機能

を直接障害するのではないかと推測している。剖検脳脊髄では確かに25kDa前後のC末側断片がTDP-43異常蓄積の主要な部分を占めるが、免疫ブロットにおけるC末側断片出現パターンはおそらく疾患のタイプによるTDP-43異常凝集体の立体構造の違いを反映しており<sup>12)</sup>、病理プロセスにおけるC末側断片形成は、不溶化、凝集体形成より下流のできごとである可能性が高い。C末側断片TDP-43-Tgマウスがどの程度ヒトの病態に近いかについては、慎重に判断する必要があるように思われる。

#### D. テトラサイクリン発現制御TDP-43-Tgマウス

遺伝子導入モデルでは、テトラサイクリン制御性トランス活性化因子を同時に組み込み、テトラサイクリン (ドキシサイクリン) を投与 (あるいは投与中止) することで、目的とする導入遺伝子の発現時期をコントロールする技術がしばしば用いられる。TDP-43-Tgマウスでも既に2件報告されており<sup>7,11)</sup>、多くの遺伝子の転写・翻訳の制御に関わっていると考えられるTDP-43を発生段階で過剰発現させることによる非特異的な変化を回避する目的で使用されている。

この発現制御モデルにおいて、発生時から導入遺伝子発現をONにした場合、リン酸化TDP-43の凝集、ユビキチン染色の増加、ミトコンドリア異常、神経細胞変性と寿命の短縮が起きるが、生き延びたマウスでは運動障害などの症状の加齢に伴う進行は認められなかったという。一方、同じ系統のマウスにおいて、離乳後にONにした場合は、ミトコンドリア異常と寿命短縮は生じなかったと報告されている<sup>11)</sup>。野生型と核移行シグナルを欠く ( $\Delta$ NLS) TDP-43をそれぞれ離乳後に発現させた研究では<sup>7)</sup>、どちらの場合も、前脳の新皮質や海馬の神経細胞消失と皮質脊髄路の変性

が認められ（ここではCaMKIIプロモーターを使用しているので脊髄では導入遺伝子の発現は少ない）、それに伴い運動機能障害が認められたという。しかしどちらの系統でもヒト疾患のような異常TDP-43蓄積はほとんど生じず、唯一、 $\Delta$ NLSを導入したTgマウスの中で最も発現量が多い系統において、少数の異常リン酸化&ユビキチン化封入体を認めたとのことである。TDP-43 ( $\Delta$ NLS) の場合は過剰発現されたヒトTDP-43が核へは移行せず細胞質にとどまるが、マウス内在性TDP-43の減少は、(核に移行する) ヒト野生型TDP-43の過剰発現と同様、認められている。

## E. TDP-43生理機能の低下

上述のように、運動機能障害などの症状とTDP-43異常蓄積の有無とが乖離していること、導入遺伝子の過剰発現によりマウスの内在性TDP-43の発現低下が示されていることなどから、Tgマウスに認められる病変形成の機序としてloss-of-functionの可能性を示唆する研究者もいる。すなわち、TDP-43の発現はそれ自身の産生量にもとづき厳密に調節されているため、導入したヒトTDP-43の過剰発現がマウスTDP-43の発現抑制に結びつき、TDP-43の多彩な機能が発生段階から低下して、生後早期から強い障害を示すという考え方である。ただしTDP-43が、種を超えて配列が比較的良好に保存された分子である点は留意する必要がある。ちなみにTDP-43のノックアウト (KO) マウスは、ホモ接合体では胎生致死、ヘテロではTDP-43の蛋白量に野生型との有意差は見られず、表現型としては運動機能障害が認められたという<sup>13)</sup>。また、誕生後にTDP-43をKOした場合は、急速に脂肪代謝障害が進行し早期に死亡に至ることが報告されている<sup>14)</sup>。さらにマウスTDP-43を過剰発現させたTgマウスにおいても(ヒトTDP-43過剰発現と)同様の表

現型が観察されており<sup>3)</sup>、現状ではTDP-43-Tgマウスの表現型をマウス内在性TDP-43の減少で説明することについては慎重にならざるを得ない。

## F. プログラニューリン遺伝子KOマウス

FTLD-TDPやALSにおけるTDP-43蓄積発見の数カ月前に、FTDP-17と呼ばれていた家族性FTLDのうちタウ遺伝子変異陰性の家系がプログラニューリン遺伝子 (*GRN*) 変異によることが報告された。*GRN*変異家系は病理学的にはTDP-43異常蓄積を伴う点で非家族性のタウ陰性FTLDと共通する。その後いくつもの*GRN*変異が同定されているが、その多くは変異効果としてプログラニューリン産生低下をきたすと考えられている。これまでに報告された*GRN*-KOマウスでは、TDP-43異常蓄積を含む、ヒトFTLD様の病理所見は十分確認されていない。*GRN*-KOマウスは老齢になるとユビキチン陽性構造が蓄積し、それに伴い神経細胞の減少や反応性グリオシスが生じるが<sup>15,16)</sup>、リン酸化TDP-43の封入体形成はないとされている。ただ、生化学的には細胞核から得られた界面活性剤不溶分画にリン酸化TDP-43が検出されたという報告がある<sup>16)</sup>。

### むすび

Tgマウスでは、使用するプロモーターや発現量以外にも様々な要因により、同じ遺伝子を持つマウスに発現させた場合であっても表現型が異なる。ヒト疾患に認められるTDP-43の異常(不溶化・凝集、異常リン酸化、ユビキチン化、C末側断片形成、核から細胞質への局在変化など)のうち、いずれが病理機序の上流の変化で、いずれが下流の変化かを十分見極められていない状況では、Tgマウスで得られた結果の解釈はさらに難しくなる。これまでに報告さ

れた10を超える系統で得られた結果は、TDP-43 遺伝子の過剰発現が、導入遺伝子におけるALS 変異の有無、誕生したマウス脳脊髄における TDP-43 異常蓄積の有無に関わりなく運動機能障害や神経細胞変性を引き起こすことを示しているように思われる。このヒト病理所見との乖離を、封入体形成が実は病理機序において下流に位置する所見であることを示していると考えるか、あるいは、これらのTgマウスがヒト疾患の病態を十分再現できていないと考えるかは、難しいところである。Tgマウスでは導入TDP-43 遺伝子は内在性TDP-43 の数倍あるいはそれ以上に過剰発現されているが、ヒト疾患においてTDP-43 の過剰発現は見出されていない。これも注意を要する点である。今後、さらなる研究により、よりよいTDP-43 proteinopathyモデルマウスが作られることを期待したい。

## 文献

- 1) Wegorzewska I, Bell S, Cairns NJ, et al. TDP-43 mutant transgenic mice develop features of ALS and frontotemporal lobar degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106: 18809-14.
- 2) Wils H, Kleinberger G, Janssens J, et al. TDP-43 transgenic mice develop spastic paralysis and neuronal inclusions characteristic of ALS and frontotemporal lobar degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010; 107: 3858-63.
- 3) Tsai KJ, Yang CH, Fang YH, et al. Elevated expression of TDP-43 in the forebrain of mice is sufficient to cause neurological and pathological phenotypes mimicking FTL-D. *J Exp Med.* 2010; 207: 1661-73.
- 4) Stallings NR, Puttaparthi K, Luther CM, et al. Progressive motor weakness in transgenic mice expressing human TDP-43. *Neurobiol Dis.* 2010; 40: 404-14.
- 5) Xu YF, Gendron TF, Zhang YJ, et al. Wild-type human TDP-43 expression causes TDP-43 phosphorylation, mitochondrial aggregation, motor deficits, and early mortality in transgenic mice. *J Neurosci.* 2010; 30: 10851-9.
- 6) Shan X, Chiang PM, Price DL, et al. Altered distributions of Gemini of coiled bodies and mitochondria in motor neurons of TDP-43 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010; 107: 16325-30.
- 7) Igaz LM, Kwong LK, Lee EB, et al. Dysregulation of the ALS-associated gene TDP-43 leads to neuronal death and degeneration in mice. *J Clin Invest.* 2011; 121: 726-38.
- 8) Swarup V, Phaneuf D, Bareil C, et al. Pathological hallmarks of amyotrophic lateral sclerosis/frontotemporal lobar degeneration in transgenic mice produced with TDP-43 genomic fragments. *Brain.* 2011; 134: 2610-26.
- 9) Xu YF, Zhang YJ, Lin WL, et al. Expression of mutant TDP-43 induces neuronal dysfunction in transgenic mice. *Mol Neurodegener.* 2011; 6: 73.
- 10) Caccamo A, Majumder S, Oddo S. Cognitive decline typical of frontotemporal lobar degeneration in transgenic mice expressing the 25-kDa C-terminal fragment of TDP-43. *Am J Pathol.* 2012; 180: 293-302.
- 11) Cannon A, Yang B, Knight J, et al. Neuronal sensitivity to TDP-43 overexpression is dependent on timing of induction. *Acta Neuropathol.* 2012; 123: 807-23.
- 12) Tsuji H, Arai T, Kametani F, et al. Molecular analysis and biochemical classification of TDP-43 proteinopathy. *Brain.* 2012. In press.
- 13) Kraemer BC, Schuck T, Wheeler JM, et al. Loss of murine TDP-43 disrupts motor function and plays an essential role in embryogenesis. *Acta Neuropathol.* 2010; 119: 409-19.
- 14) Chiang PM, Ling J, Jeong YH, et al. Deletion of TDP-43 down-regulates Tbc1d1, a gene linked to obesity, and alters body fat metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010; 107: 16320-4.
- 15) Ahmed Z, Sheng H, Xu YF, et al. Accelerated lipofuscinosis and ubiquitination in granulin knockout mice suggest a role for progranulin in successful aging. *Am J Pathol.* 2010; 177: 311-24.
- 16) Wils H, Kleinberger G, Pereson S, et al. Cellular ageing, increased mortality and FTL-D-TDP-associated neuropathology in progranulin knockout mice. *J Pathol.* 2012; 228: 67-76.

