

RNA 代謝を標的とした前頭側頭型認知症の発症病態の解明

宮崎 雄

大阪大学大学院医学系研究科 神経遺伝子学

【研究の背景】

前頭側頭型認知症 (Frontotemporal dementia: FTD) はアルツハイマー病とレビー小体型認知症に次ぐ国内第 3 位の変性型認知症であり、今後、患者数の増加が予想される。FTD 患者では大脳の前頭葉や側頭葉を中心に変性部位の神経細胞において、*TARDBP* 遺伝子の産物であり本来核に局在する TDP-43 と呼ばれる RNA 結合タンパク質が細胞質に蓄積している (Neumann M, *et al. Science*, 314:130-133, 2006. 3. Arai T, *et al. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 351:602-611, 2006.)。また、TDP-43 の細胞質内蓄積は、FTD と筋萎縮性側索硬化症 (ALS) に共通してみられる病理変化でもあり、実際、FTD 患者の約 1 割は運動神経障害を併発することが知られている。さらに、家族性 ALS/FTD の一部で *TARDBP* 遺伝子に変異が同定されていることから、*TARDBP* 遺伝子ならびにその遺伝子産物 TDP-43 はこれらの疾患の発症病態の鍵を握っていると考えられる (Lee EB, *et al. Nat Rev Neurosci.*, 2011)。しかしながら、*TARDBP* 遺伝子と ALS/FTD の発症病態を結びつける詳細なメカニズムは未解明であり、ゆえに有効な治療標的も見つかっていない。この一因として、発症病態を正確に再現するモデル動物の欠如があげられる。

我々の研究グループは先行実験として、ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 を用いて、ALS/FTD 患者で同定されているいくつかの *TARDBP* 遺伝子変異のうち G348C 変異を選択し、マウス当該遺伝子 *Tardbp* にノックイン (KI) することで新たなモデルマウスを作製した。その後、ヘテロ KI マウス (KI/WT マウス) 同士の交配から、ホモ KI マウス (KI/KI マウス)、KI/WT マウス、野生型マウス (WT/WT マウス) を創出した。これら 3 群のマウスを対象に表現型を解析したところ、KI/KI マウスと KI/WT マウスにおいて、約 6 ヶ月齢より筋力低下や下肢の痙縮 (Clasping) とした運動神経障害を、約 12 ヶ月齢より筋力低下を認めた (図 1)。よって、新たなモデルマウスとして、*TARDBP* 遺伝子変異に起因する ALS の発症病態の解明に役立つものと考えている。また、KI/KI マウスと KI/WT マウスにおいては、ALS/FTD に共通した病理像である TDP-43 陽性の封入体は運動神経障害出現時から末期にかけて認められないことから、発症初期に生じる *Tardbp* 遺伝子変異を介した RNA 代謝異常により運動神経細胞死に至ると予測されるが、その詳細は不明である。

これらの先行実験の結果をふまえ、FTD に特徴的な行動異常を伴う高次脳機能障害の評価をあわせて行うことで、KI/KI マウスと KI/WT マウスが FTD モデルとしても有用であるかを検証し、*TARDBP* 遺伝子変異に起因する RNA 代謝異常の観点から FTD の発症病態の解明につなげられるのではないかと着想するに至った。

【目 的】

本研究では、1) KI/KI マウスと KI/WT マウスを対象に FTD に特徴的な行動異常を伴う高次脳機能障害が認められるかの評価を行うことで FTD モデルとしての有用性を検証すること、2) KI/KI マウスと KI/WT マウスの中枢神経組織における RNA 代謝を解析し、FTD の発症病態につながる RNA 代謝経路の同定を行うこと、の 2 点を目的とする。

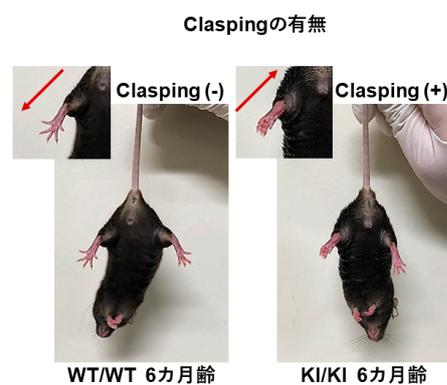


図 1

【方 法】

KI/KI マウス、KI/WT マウス、WT/WT マウスの 3 群のマウスを対象に高次脳機能の解析として、自動行動追跡・解析用ビデオトラッキングシステム(EthoVision™ XT)を使用し、20 分間の計測時間あたりのマウスの総移動距離および中心域の滞在時間にて評価を行った。

【結 果】

自動行動追跡・解析用ビデオトラッキングシステム(EthoVision™ XT)を用いたマウスの行動解析では、20 分間の計測時間あたりのマウスの総移動距離について 3 群間で差はみられないものの、WT/WT マウスと比較して、KI/KI マウスと KI/WT マウスの行動範囲全体における中心域の滞在時間は 3 カ月齢から延長する傾向を認めた(図 2)。

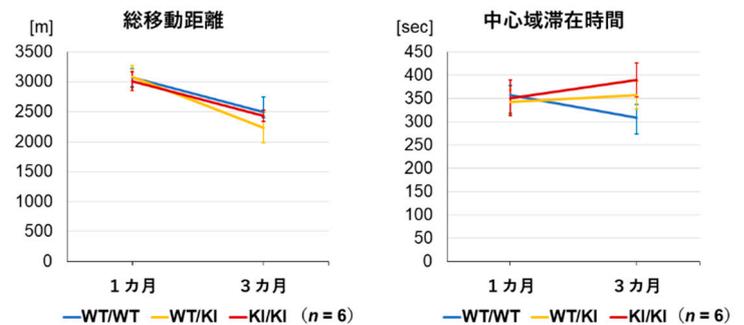


図 2

【考 察】

これまでに行った解析では、KI/KI マウスと KI/WT マウスの行動異常は 3 カ月齢から出現し、握力の低下や下肢の痙縮(Clasping)といった上位運動神経障害の出現に先行することが分かった。また、KI/KI マウスと KI/WT マウスの行動範囲全体における中心域の滞在時間の延長は、マウスの注意力低下・注意散漫を表すものと考えられる。FTD を特徴づける臨床症状として、無関心、常同行動、脱抑制があげられるが、今回作製した KI/KI マウスと KI/WT マウスにおいても、これらの行動異常がみられるかを詳細に評価するには、Social interaction test、Novel objects recognition test を追加し、マウスの高次脳機能を多面的に検証する必要があると考える。

さらに、これらの行動異常を来す分子病態基盤として、TDP-43 による RNA 代謝に着目した解析を今後、進めていく。具体的には、1) 今回作製したモデルマウス中枢神経組織由来の RNA を sequencing により解析し、RNA 結合タンパク質である TDP-43 の標的 RNA プロファイルがどのように変化し、その結果、*Tardbp* 遺伝子変異が中枢神経における RNA 代謝にどのような影響を及ぼすのかを解析する。2) 培養細胞モデルを用いた PAR-CLIP 法により、TDP-43 の標的 RNA を探索し、1) の結果とあわせて比較検証を行うことで、FTD において神経変性に起因するマウスの行動異常を来す RNA 代謝経路を同定する。これらの結果を統合することで、FTD の発症病態の解明につなげていきたい。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究では、実際の臨床において FTD 患者にみられる *TARDBP* 遺伝子変異を再現するマウスを作製し、KI/KI マウスと KI/WT マウスが注意散漫といった行動異常を呈することを見出していることから、これらが FTD のモデルマウスになり得ると考えられる。さらに、このモデルマウスの発症病態を詳細に解析・検証し、FTD に対する新たな治療標的を見出すことで、臨床応用へ貢献できるものと考えられる。

【参考・引用文献】

1. Neumann M, et al. *Science*, 314:130–133, 2006.
2. Arai T, et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 351:602–611, 2006.
3. Lee EB, et al. *Nat Rev Neurosci.*, 13:38–50, 2011.