

審査の結果の要旨

氏名 岩田博司

アルツハイマー病(Alzheimer's disease ; AD) は老年期に発症する進行性の変性型痴呆症であり、その解決は急務である。AD 患者脳に出現する老人斑は β アミロイドペプチド ($A\beta$) から構成される。 $A\beta$ が β アミロイド前駆体 蛋白 (β APP) から切り出される際、まず細胞外側で β セクレターゼによる切断を受け C 末端断片 (C100) が生じたのち、膜貫通領域内部で、 γ セクレターゼによる切断を受けることにより $A\beta$ が生じる。 $A\beta$ には γ セクレターゼによる切断位置の違いにより、C 末端が第 40、42 残基まで伸びた $A\beta$ 40 と $A\beta$ 42 が存在する。このうち $A\beta$ 42 は凝集性が高く初期から蓄積すること、また、家族性 AD (FAD) の原因遺伝子である β APP あるいはプレセニリン (PS) の変異により $A\beta$ 42 の産生が亢進することが明らかにされた。従って $A\beta$ 産生にかかわる γ 切断機構、特に $A\beta$ 42 の産生機序の解明は AD の病態の理解に重要である。申請者 岩田博司は (1) γ 切断により $A\beta$ が産生される細胞内コンパートメントの同定、(2) γ 切断に必要な β APP 分子内サブドメインの同定、特に細胞質ドメインと膜貫通領域の機能的意義の検討を行い、更にこれらと PS の FAD 変異による $A\beta$ 42 産生上昇機構との関連について調べた。

γ セクレターゼ活性を有する細胞内コンパートメントを同定するために、C100 の C 末端側に小胞体(ER)局在シグナルである-KKLN 配列、及びトランスゴルジネットワーク (TGN) へのリサイクルシグナルである-SDYQRL 配列を結合させたキメラ蛋白をマウス N2a 細胞に発現させた。C100/ER を発現した場合には分泌型、細胞内 $A\beta$ とともに検出されなかったが、C100/TGN 発現により分泌型、細胞内 $A\beta$ がともに検出され、その量は C100/wt を発現させた場合とほぼ同等であった。FAD 変異を有する PS2 を共発現させた場合には、分泌型 $A\beta$ 、細胞内 $A\beta$ ともに C100/ER では $A\beta$ 42 産生亢進は生じなかったが、C100/wt、C100/TGN では $A\beta$ 40 の減少と、 $A\beta$ 42 産生の上昇がみられた。これらの結果から、細胞内及び分泌型 $A\beta$ の大部分はともに TGN 以降の late compartment で産生されること、変異型 PS2 の $A\beta$ 42 産生亢進作用もこれらのコンパートメントで生じることが分かった。

$A\beta$ が γ 切断を受けて産生されるのに必要な β APP の分子内サブドメイン、特に細胞質領域の役割を明らかにするため、C100 の細胞質領域を段階的に欠失させた変異体を作製し解析を行った。 $A\beta$ 分泌を ELISA 法で解析すると、C100/stop68、C100/stop56 発現時には $A\beta$ に変化は見られず、C100/stop52 発現により $A\beta$ 1-40 分泌は変化しなかったが $A\beta$ 1-42 分泌が特異的に減少した。変異型 PS2 と C末端欠損型 C100 を共発現すると $A\beta$ 1-42 分泌の上昇が観察され、この場合細胞質領域を完全に欠失させた C100/stop52 でも $A\beta$ 42 の産生亢進は全長 C100/wt と同程度に生じた。これらの結果から γ セクレターゼによる β APP の切断及び変異型 PS による $A\beta$ 42 産生上昇効果には膜貫通部分を含む C100 の N 末端半のみが存在すれば十分であり、細胞質領域は必要ではないことが示唆された。

次にN末端側にシグナルペプチドを付加した sA β 1-40 と sA β 1-42 そのものを COS-1 細胞に一過性に発現させ細胞内局在を解析したところ、sA β 1-40 は細胞内膜系に局在し、特に ER に強い局在を示した。一方 sA β 1-42 は sA β 1-40 と同様に ER に局在するとともに、細胞内でしばしば凝集体様の構造を形成した。A β 1-40、A β 1-42 は細胞内からほぼ同等に回収されたが、相当量の A β 1-40 が分泌されるのに対し、A β 1-42 はほとんど分泌されなかった。これらの結果から、 γ 切断が生じるには膜貫通部分の保存された状態が必要であること、また A β 1-42 は A β 1-40 とは異なり、細胞内で膜と高い親和性を示し、細胞内に留まりやすい性質を有することが明らかとなった。

以上のごとく申請者 岩田博司は、 β APP の γ 切断及び変異型 PS2 による A β 42 産生亢進効果は ER ではなく TGN 以降で主に生じており、 β APP の細胞質領域を欠失させても影響を受けないこと、さらに A β 42 は分泌されずに細胞内に留まりやすい性質をもつことを明らかにした。また FAD 変異 PS による A β 42 産生上昇効果も主に TGN で β APP の膜内部分を介して生じることを示した。これらの結果はアルツハイマー病の分子病態に関連した新知見をもたらすものであり、博士（薬学）の学位に値するものと考えられた。