

## 論文審査の結果の要旨

氏名 佐藤 徹

本論文は、アルツハイマー病の脳内に蓄積する老人斑の構成成分であるアミロイドβタンパク質(AB)の産生に関わるものである。ABは約40残基から成り、アミロイドβタンパク質前駆体(APP)からβセクレターゼ及びγセクレターゼというプロテアーゼによって切り出される。γセクレターゼ自身はまだ同定されていないが、プレセニリンという8回膜貫通型タンパク質が、活性に必須な成分、またはそれ自身がγセクレターゼではないかといわれている。本論文では、ABのC末端を決定するγセクレターゼに注目し、γセクレターゼ活性のみを有する無細胞系の確立と、その生化学的解析を行ったものである。

第1章では、γセクレターゼ活性を有する無細胞系の確立について述べている。まず、野生型(wt)APPと野生型(wt)PS2を導入したCHO細胞から膜画分を調製し、ウェスタンブロッティングによってABを定量する系を作出した。この系では、βセクレターゼ阻害剤を用いてもAB産生に影響しないことから、既にβセクレターゼで切断されたAPPのC末端99残基(CTFβ)がγセクレターゼの直接の基質になっていると考えられた。

第2章は、γ-cleavageとε-cleavageの関係について調べたものである。ABはVal140またはAla42で終わっているため、γセクレターゼで切断されたAPPのC末端99残基(CTFγ)はIle41またはThr43から始まっていると考えられていた。しかし、実際にはVal150から始まっていることがわかり、この切断をε-cleavageと呼んでいる。ε-cleavage部位はγ-cleavage部位の約10残基下流に位置し、膜・細胞質境界から数残基内側に存在する。この切断はγセクレターゼ阻害剤などによって阻害されることから、γ-cleavageと密接に関わっていると考えられた。本研究では、AB42を特異的に上昇させる家族性変異を導入したAPP(V717F)やPS2(N141I)をCHOやHEK293細胞に発現させ、AB42の産生とCTFγの産生の関係を免疫沈降、MALDI-TOF MS、及びアミノ酸シーケンサーによって定量解析した。その結果、正常APPやPS2を過剰発現する細胞の膜画分ではVal150から始まっているCTFγ50-99が主な分子種であったのに対し、変異APPやPS2では野生型に比べ1残基長いLeu49から始まるCTFγ49-99が主な分子種であった。

これらの結果から、CTF $\gamma$ 49-99の産生がA $\beta$ 42産生と対応していることが示され、 $\epsilon$ -cleavageと $\gamma$ -cleavageは密接に関わることが示された。このことから次のようなメカニズムが考えられた。まず、CTF $\beta$ は $\epsilon$ -cleavageによって切断され、その後 $\gamma$ -cleavageを受ける。このとき、 $\epsilon$ -cleavageがVal50の前で切断された場合、A $\beta$ 40が産生される確率が上昇し、Leu49の前で切断を受けた場合、A $\beta$ 42が産生される確率が上昇する。

以上、本論文は、アルツハイマー病に特徴的なアミロイド $\beta$ タンパク質の生成機構と $\gamma$ セクレターゼの基質特異性の一端を明らかにしたものであり、独創的かつ重要な知見と考えられる。なお、本論文は、堂前直、斉悦、角田伸人、御園生裕明、三森理恵、Hiroko Maruyama、Edward H. Koo、Christian Haass、瀧尾擴士、森島真帆、石浦章一、井原康夫との共同研究であるが、論文著者が主体的に研究を行ったものであり、寄与が十分であると判断した。

よって、審査員一同、業績は博士（理学）の学位を授与できると認める。